

**Wertigkeit der semiquantitativ erfassten fäkalen
Laktoferrinkonzentration in der Abklärung infektiöser
Diarrhoen**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Katharina Selma Thea Rieth
geboren am 15.04.1984 in Mosbach

Gutachter:

- 1. Prof. Dr. A. Stallmach, Jena**
- 2. Prof. Dr. W. Pfister, Jena**
- 3. Prof. Dr. Th. Seufferlein, Halle (Saale)**

Verteidigung: 6.12.2010

Abkürzungsverzeichnis

Die im Text verwendeten Abkürzungen sind im Folgenden alphabetisch aufgelistet.

Allgemein gebräuchliche Abkürzungen

AB	Antibiotika
AF	Atemfrequenz
AIDS	acquired immune deficiency syndrome
ASS	Aspirin
BB	Blutbild
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CA	Karzinom
cAMP	cyclic adenosine monophosphate (zyklisches Adenosinmonophosphat)
cGMP	cyclic guanosine monophosphate (zyklisches Guanosinmonophosphat)
CDC	Chenodesoxycholsäure
CD	Clostridium difficile
CDT	Clostridium difficile Toxin
CED	chronisch entzündliche Darmerkrankung
CRP	C-reaktives Protein
CU	Colitis ulcerosa
FOBT	fäkal-er okkult-er Bluttest
GÖR	gastroösophagealer Reflux
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IfSG	Infektionsschutzgesetz
IKZ	Inkubationszeit
LFLA	Lactoferrin latex agglutination assay (Laktoterrin Latexagglutinationsstest)
MC	Morbus Crohn
NaCl	Natriumchlorid
NPV	negative predictive value (negativer prädiktiver Wert/Vorhersagewert)
NSAR	Nicht-steroidale Antirheumatika
NSTEMI	Non-ST-elevation myocardial infarction (Nicht-ST-Hebungsinfarkt)
PMC	Pseudomembranöse Kolitis
PPV	positive predictive value (positiver prädiktiver Wert/Vorhersagewert)
PPI	Protonenpumpeninhibitor
RKI	Robert-Koch-Institut
RT-PCR	Real-time Polymerase Chain Reaction
SFR/d	Stuhlfrequenz/Tag
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences (Statistikprogramm)
TBC	Tuberculosis (Tuberkulose)
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
1. Zusammenfassung	1
1.1. Wissenschaftlicher Hintergrund und aktueller Forschungsstand	1
1.2. Fragestellung und Ziele	1
1.3. Methoden	1
1.4. Ergebnisse und Diskussion	2
1.5. Schlussfolgerungen	2
2. Einleitung	3
2.1. Die Durchfallerkrankung	3
2.1.1. Allgemeines und Epidemiologie	3
2.1.2. Definition	5
2.1.3. Ätiologie	6
2.1.4. Klinische Symptome und Komplikationen	7
2.1.5. Infektiöse versus nicht-infektiöse Durchfallerkrankung	7
2.1.6. Erreger	8
2.1.7. Infektiosität und Kontagiosität	9
2.1.8. Meldepflicht	10
2.1.9. Isolation	10
2.2. Diagnostik der Durchfallerkrankung	11
2.2.1. Anamnese und klinische Untersuchung	11
2.2.2. Indikation zur weiteren Diagnostik	12
2.2.3. Laboruntersuchungen	12
2.3. Laktoferrin in der Diagnostik bakterieller Diarrhoen	13
2.3.1. Laktoferrin	13
2.3.2. Laktoferrin als Gegenstand der Forschung	13
2.4. Prävention	15
2.4.1. Patientenisolation	15
2.4.2. Hygienemaßnahmen	15
2.4.3. Freistellung von erkranktem Personal	15
2.4.4. Beschränkung der Personalebewegung	15
2.4.5. Information	16

3.	Ziele der Arbeit	17
3.1.	Primäres Ziel	17
3.2.	Sekundäre Ziele	17
4.	Methodik	18
4.1.	Studiendesign	18
4.2.	Ein- und Ausschlusskriterien	18
4.3.	Patientenkollektiv	18
4.4.	Untersuchungsmaterialien	18
4.5.	Studiendurchführung	19
4.5.1.	Zeitraumen	19
4.5.2.	Stuhlprobengewinnung- und Weiterverarbeitung	19
4.5.3.	Kostenanalyse	20
4.6.	Methoden	21
4.6.1.	Mikrobiologische Routinediagnostik	21
4.6.2.	Laktoferrin Latexagglutinationstest	21
4.7.	Datenerhebung und statistische Auswertung	23
4.7.1.	Datenerfassung- und Verarbeitung	23
4.7.2.	Auswertungskategorien	23
4.7.3.	Statistische Verfahren	25
5.	Ergebnisse	26
5.1.	Demographische Daten	26
5.1.1.	Alter und Geschlecht	26
5.2.	Studienablauf	27
5.2.1.	Durchführbarkeit	27
5.2.2.	Diarrhoedauer	29
5.2.3.	Stuhlentleerungsfrequenz	29
5.3.	Mikrobiologie	30
5.3.1.	Intention to Treat Auswertung	30
5.3.2.	Per Protokoll Auswertung	32
5.4.	Laktoferrin-Titer	33
5.4.1.	Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:50 mit dem mikrobiologischen Bakteriennachweis	33
5.4.2.	Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:200 mit dem mikrobiologischen Bakteriennachweis	34

5.4.3.	Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:50 mit dem mikrobiologischen Virennachweis	35
5.4.4.	Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:200 mit dem mikrobiologischen Virennachweis	36
5.4.5.	Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:50 mit dem mikrobiologischen CDT-Nachweis	36
5.4.6.	Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:200 mit dem mikrobiologischen CDT-Nachweis	38
5.5.	Klinik	39
5.6.	Kostenanalyse	40
6.	Diskussion	41
6.1.	Diskussion des Studienablaufes	41
6.2.	Diskussion der Durchführbarkeit	42
6.3.	Diskussion der Mikrobiologie und Mikroskopie	43
6.4.	Diskussion des Laktoferrintiters	45
6.5.	Diskussion der Klinik	46
6.6.	Diskussion des Algorithmus	47
6.7.	Diskussion der Wirtschaftlichkeit des Testes	49
7.	Schlussfolgerungen	51
	Literatur- und Quellenverzeichnis	52
	Anhang	58
I.	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	58
II.	Aufnahmebogen	60
III.	Isolierungsmaßnahmen am Klinikum der FSU Jena	61
IV.	Tabellarischer Lebenslauf	64
V.	Danksagung	66
VI.	Ehrenwörtliche Erklärung	68

1. Zusammenfassung

1.1. Wissenschaftlicher Hintergrund und aktueller Forschungsstand

Durchfallerkrankungen gehören, gleich nach den Infektionen des oberen Respirationstraktes und den HIV-Infektionen laut Weltgesundheitsbericht von 2004 zu den dritt häufigsten Infektionskrankheiten weltweit, sowohl in Bezug auf ihre Morbidität als auch auf ihre Mortalität. Laut WHO treten jedes Jahr weltweit etwa zwei Milliarden Durchfallerkrankungen auf, wovon jährlich etwa 2 Millionen Menschen, meist im Alter unter fünf Jahren und vorwiegend in den Entwicklungsländern aufgrund schlechter Hygienemaßnahmen und Sanitäreinrichtungen versterben. Selbst in der BRD muss jährlich mit ca. 41 Mio. akuten Diarrhoefällen pro Jahr gerechnet werden, wobei etwa 13 Mio. Betroffene einen Arzt aufsuchen. Die Behandlung dieser Patienten wird selbst heutzutage noch durch zeitintensive Diagnoseverfahren, wozu auch der bisherigen Goldstandard in der Diagnostik, die mikrobiologische Stuhlkultur zählt, verzögert. Aufgrund der großen Häufigkeit, aber auch wegen der niedrigen Sensitivität des Goldstandards resultieren sehr hohe Kosten im Gesundheitssystem.

1.2. Fragestellung und Ziele

Können bei Patienten, die mit Verdacht auf eine infektiöse Diarrhoe in die Klinik aufgenommen werden, durch Bestimmung des Laktoferrin (LF)-Titers in Stuhlproben diagnostisch unnötige Stuhlkulturen vermieden werden?

1.3. Methoden

Zwischen 2007 und 2009 wurden in einer prospektiven klinischen Studie am Universitätsklinikum der Friedrich-Schiller-Universität in Jena Stuhlproben zweier Stationen (Station 461 und 500) gesammelt und mit einem kommerziell erhältlichen Laktoferrin-Latexagglutinationstest (Leuko-Test®) in einer 1:50- und 1:200-Titer-Reihe untersucht. Die Testergebnisse wurden sowohl mit den Ergebnissen der mikrobiologischen Routinestuhl Diagnostik (Untersuchung auf Shigellen, Salmonellen, Campylobacter, Yersinien, Adeno-, Rota-, Noroviren, Clostridium difficile Toxin) als auch mit anamnestischen, klinischen und laborchemischen Daten der Patienten verglichen. Es erfolgten sowohl statistische Analysen, als auch eine Kostenanalyse.

1.4. Ergebnisse und Diskussion

Insgesamt wurden im angegebenen Zeitraum 184 Stuhlproben von 165 Patienten (87 weiblich, 78 männlich, Durchschnittsalter 56 Jahre) gesammelt und nach Berücksichtigung der Ein- bzw. Ausschlusskriterien 137 Stuhlproben zur Auswertung herangezogen.

Eine breiigere Stuhlkonsistenz verhinderte hierbei insgesamt 33-mal und somit in fast $\frac{1}{4}$ d. F. die Durchführbarkeit des LF-Testes. In 9 Fällen gelang die Durchführung des Testes trotz Angabe einer flüssigen Konsistenz nicht. Somit kamen insgesamt nur 95 Stuhlproben zur Auswertung. Folgende Ergebnisse wurden erhoben: Bei 4 von 6 durch die Routinestuhl Diagnostik nachgewiesenen bakteriellen Infektionen bzw. bei 1 von 18 viralen Infektionen war die LF-1:50-Titer-Untersuchung positiv. Bei 1 von 3 Erkrankungen durch CDT konnte ein positiver Befund erhoben werden.

Tab. 1 Vergleich des Nachweises pathologischer Erreger in der mikrobiolog. Routinestuhlkultur mit den LF-Titern

		LF-Titer 1:50			LF-Titer 1:200		
		pos.	neg.	Total	pos.	neg.	Total
Bakterien	nicht nachweisbar	7	82	89	5	84	89
	nachweisbar	4	2	6	0	6	6
	Gesamt	11	84	95	5	90	95
Viren	nicht nachweisbar	10	67	77	5	72	77
	nachweisbar	1	17	18	0	18	18
	Gesamt	11	84	95	5	90	95
CDT	nicht nachweisbar	10	82	92	4	88	92
	nachweisbar	1	2	3	1	2	3
	Gesamt	11	84	95	5	90	95

1.5. Schlussfolgerungen

Bei Patienten, die mit Verdacht auf akute infektiöse Diarrhoe stationär aufgenommen werden, schließt ein negativer LF-Test mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Infektion durch enteropathogene Bakterien, nicht jedoch eine Infektion durch Viren oder Toxin bildende Clostridien aus. Ein genereller routinemäßiger Einsatz zur Frage, ob bei diesen Patienten eine infektiöse, gleich isolationspflichtige Diarrhoe vorliegt, ist somit nicht sinnvoll. Der Test kann allenfalls eine bakterielle Infektion mit ausreichender Sicherheit ausschließen und so ggf. einen Beitrag zur Begrenzung der eingesetzten Ressourcen liefern.

2. Einleitung

2.1. Die Durchfallerkrankung

2.1.1. Allgemeines und Epidemiologie

Durchfallerkrankungen (Gastroenteritiden) stellen weltweit eine der häufigsten Ursachen für Morbidität- und Mortalität infektiöser Erkrankungen dar, wobei die akute infektiöse Durchfallerkrankung dabei heutzutage - gleich nach den Infektionen des oberen Respirationstraktes und HIV-Infektionen - immer noch an dritter Stelle der Häufigkeiten rangiert.

In einer der neuesten Studien der Weltgesundheitsorganisation (WHO) geht man davon aus, dass etwa eine Million Menschen im Alter von über fünf Jahren jährlich an Durchfall versterben.

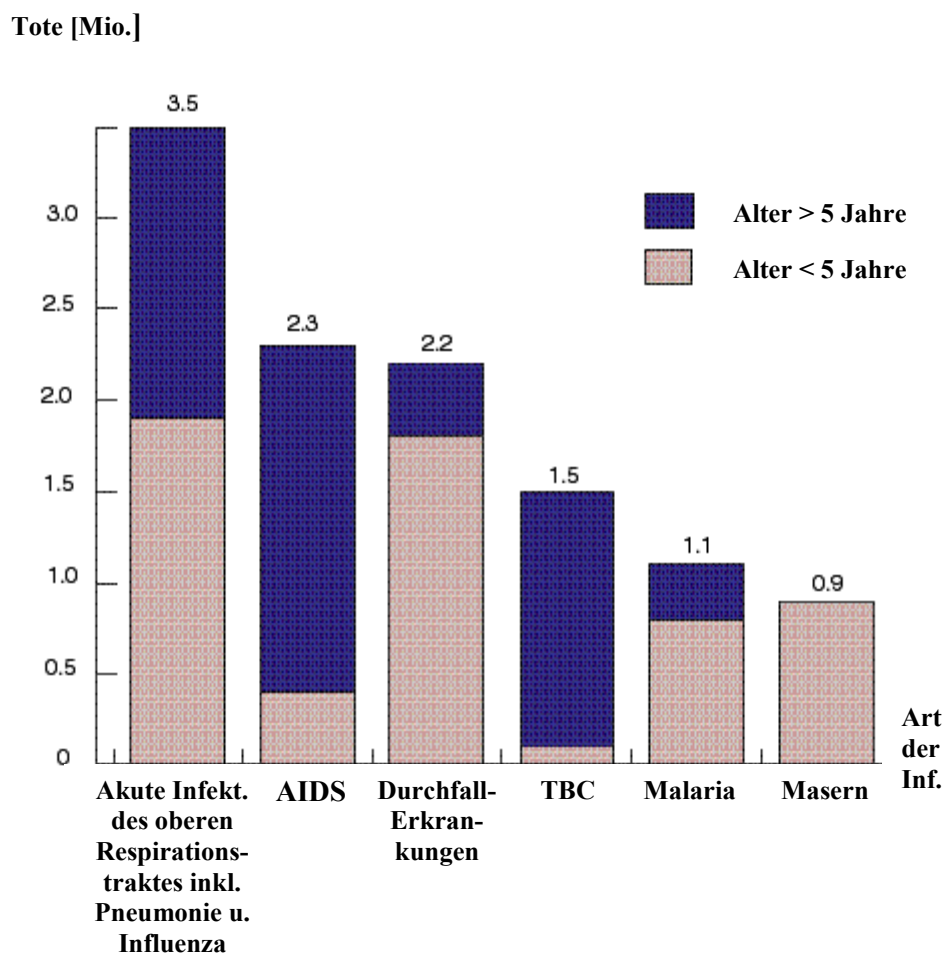


Abb. 1 Führende infektiöse Todesursachen weltweit und alle Alter betreffend (World Health Report, 2004)

Die klinische Bedeutung der akuten Diarrhoe wird auch durch die Tatsache deutlich, dass ungefähr 30% der deutschen Bevölkerung pro Jahr unter akuten Diarrhoeepisoden leiden. Durchschnittlich muss man somit jährlich mit 41 Millionen akuten Diarrhoefällen rechnen. Meistens ist sie harmlos, beeinflusst jedoch die Lebensqualität und Arbeitsfähigkeit der Betroffenen ganz erheblich. Während dabei 69 % der Erkrankten den Spontanverlauf abwarten oder so genannte Hausmittel (Kohletabletten), beziehungsweise eine Eigenmedikation anwenden, suchen etwa 13 Millionen (31 % der Erkrankten) einen Arzt auf (Lankisch et al. 2006).

In der Allgemeinpraxis in Deutschland ist die Durchfallerkrankung somit ein häufiges Problem und steht hinsichtlich ihres Auftretens an neunter Stelle der Arztbesuche (Lembcke 2001).

Während die Stuhlmikroskopie lange als einfache, schnelle und verlässliche Diagnosemethode angesehen wurde, um zwischen entzündlichen und nicht-entzündlichen Darmerkrankungen zu unterscheiden (Guerrant et al. 1985, Hossain und Albert 1991), wird ihr in neueren Studien eine niedrige Sensitivität zugeschrieben (Bauer et al. 2001, Fan et al. 1993, Kane et al. 2003, Koplan et al. 1980). Zudem setzt sie ein Mikroskop, erfahrenes Fachpersonal und frisches Untersuchungsmaterial voraus. Diese Methode wird heutzutage nicht flächendeckend eingesetzt.

Die mikrobiologische Stuhlkultur ist zeitaufwendig und teuer und ihr Nutzen als diagnostische Methode steht, aufgrund ihrer niedrigen Sensitivität, in keinem Verhältnis zu den Kosten, die sie verursacht (Guerrant et al. 1985, Koplan et al. 1980).

Diese Masse an evtl. behandlungsbedürftigen Patienten impliziert die Entwicklung neuer und vor allem schnellerer Diagnoseverfahren (Choi et al. 1996, Goodman und Segreti 1999, Guerrant und Bobak 1991, Guerrant et al. 1983, Miller et al. 1994).

Eine einfache Alternative schien der sog. Latex-Agglutinationstest (LFLA) zu bieten, bei dem LF in Fäzes als Indikator einer entzündlichen Darmerkrankung aufgespürt wird.

Bis dato wurden zu diesem Thema verschiedene klinische Studien durchgeführt, die jedoch aufgrund unterschiedlichster Ein- und Ausschlusskriterien nur unzureichend vergleichbar sind (Huicho et al. 1996). Häufig waren die Studien aufgrund einer geringen Anzahl an Patienten hinsichtlich der standardisierten Einführung eines Verfahrens, wie das des Laktoferrin-Latexagglutinationstests, nicht valide genug.

Es fehlen bisher Studien, die den Einsatz des Laktoferrintestes unter klinischen Routinebedingungen untersuchen.

Aufgrund dieser Datenlage wurde eine prospektive klinische Studie durchgeführt, um die Wertigkeit der semiquantitativ erfassten fäkalen Laktoferrinkonzentration in der Abklärung infektiöser Diarrhoen unter Routinebedingungen zu beurteilen und das Für und Wider einer Einführung des LFLA in die Klinik abzuwägen.

2.1.2. Definition

Der Begriff Diarrhoe (Durchfall) kommt aus dem Griechischen (diárria) und ist aus den beiden griechischen Wörtern dia (durch) und rhéo (ich fließe) zusammengesetzt (Zetkin/Schaldach. 2005). Die Diarrhoe an sich stellt dabei ein häufiges Symptom ätiologisch-heterogener Krankheiten dar. In der Literatur existieren zahlreiche Definitionen zum Komplex Diarrhoe (Scerpella et al. 1994, Greenberg et al. 2002).

Medizinisch gesehen spricht man von Durchfall, wenn innerhalb eines Tages mehr als drei dünnflüssige Stühle mit einem Wassergehalt >75% und einem Gewicht von mehr als 200-250g abgesetzt werden.

Eine Diarrhoe von weniger als 14 Tagen Dauer wird als akute Diarrhoe bezeichnet. Falls die Durchfälle jedoch länger als 14 Tage anhalten, wird von einer chronischen Diarrhoe gesprochen.

Davon müssen differentialdiagnostisch folgende Sonderformen abgegrenzt werden (Lankisch et al. 2006):

- Die sogenannte Pseudodiarrhoe ist durch eine gesteigerte Defäkationsfrequenz ohne Konsistenzänderung des Stuhls und einem Stuhlgewicht unter 200g, wie z.B. beim Colon irritabile, gekennzeichnet.
- Die paradoxe Diarrhoe, bei der es, verursacht durch bakterielle Vergärung des Stuhls, Wanddehnung vor Stenosen, Stase im distalen Kolon (Karzinom) und Immobilisation geriatrischer Patienten, zu einer Stuhlverflüssigung kommt.
- Die Steatorrhoe (sog. Fett –oder auch Pankreasstuhl) ist bei einer erhöhten Fettausscheidung durch hohe Volumina mit fettig-breiiger Konsistenz charakterisiert.

2.1.3. Ätiologie

Es gibt zahlreiche mögliche Auslöser einer Durchfallerkrankung. Nie vergessen sollte man dabei, dass die Durchfallerkrankung an sich kein eigenständiges Krankheitsbild, sondern ein Haupt- oder Begleitsymptom zahlreicher Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes, aber auch vieler extraintestinaler Erkrankungen oder deren medikamentöser bzw. operativer Behandlungen darstellen kann.

Folgende Einteilungsprinzipien lassen sich treffen (Herold et al, 2006):

- Infektionen: Bakterien, Viren, Protozoen, Pilze
- Antibiotikaassoziierte Diarrhoe: Am häufigsten nach Ampicillin, Clindamycin und Cephalosporinen, grundsätzlich jedoch nach allen AB
mgl. - Als schwerwiegende Sonderform sei hier die pseudomembranöse Kolitis durch CDT genannt.
- Lebensmittelvergiftungen: Durch bakterielle Toxine
- Intoxikationen: Arsen, Quecksilber, Kupfer, Giftpilze u. a.
- Medikamente: Laxantien, Colchizin, CDC, Chinidin, Zytostatika u. a.
- Nahrungsmittelallergie
- Erkrankungen, die zu Malabsorption führen, z.B.:
 - Zöliakie und tropische Sprue
 - Laktasemangel
 - M. Whipple
 - Strahlenenteritis
 - Störungen der enteralen Durchblutung oder Lymphdrainage
- Erkrankungen, die zu Maldigestion führen, z.B.:
 - Postgastrektomiesyndrom
 - exokrine Pankreasinsuffizienz
- Chronisch entzündliche Darmerkrankungen wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa
- Tumoren des Kolons, wie Adenome und Karzinome
- Hormonell bedingt durch z.B. Hyperthyreose, medulläres Schilddrüsen-CA, Karzinoid, Gastrinom, Vipom, Addison-Krise
- Autonome diabetische Neuropathie
- Reizdarmsyndrom vom Diarrhoe-Typ, häufig psychovegetative Fehlregulation

2.1.4. Klinische Symptome und Komplikationen

Die Bandbreite der klinischen Symptome einer Durchfallerkrankung ist sehr groß. Typisch für einen durch Bakterien hervorgerufenen Durchfall sind Schmerzen und Krämpfe im Unterbauch, blutig-schleimiger Stuhl und häufig Fieber. Bei einem durch Viren verursachten Durchfall ist der Stuhl dagegen meist wässrig, die Schmerzen sind auf den Oberbauch beschränkt und Fieber findet sich eher selten. Nach zwei bis drei Tagen ist eine infektiöse Diarrhoe meist abgeklungen. Allgemeine Beschwerden wie Appetitmangel, leichte Bauchschmerzen oder körperliche Schwäche können jedoch noch einige Tage länger anhalten. Wenn der Durchfall länger als drei Tage anhält oder zusätzliche Symptome wie blutiger Stuhl, Schläfrigkeit, Teilnahmslosigkeit und schlechter Allgemeinzustand beobachtet werden, ist dringend ein Arztbesuch zu empfehlen.

Auch bei Patienten, die einer der Risikogruppen (Kinder, ältere Menschen, Patienten mit konsumierenden Erkrankungen) zugeordnet werden können, ist eine zeitnahe Therapieindikation dringend zu überprüfen.

Die wichtigsten Komplikationen der Diarrhoe stellen die Dehydratation und die Malnutrition dar (Guerrant et al. 2001). Seltener sind erregerspezifische Komplikationen zu beobachten, wie das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS) nach Infektion mit EHEC, das Guillain-Barré-Syndrom (GBS) durch *Campylobacter jejuni* sowie reaktive Arthritiden nach Infektionen mit *Salmonellen*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri*, *Campylobacter jejuni/fetus* und *Clostridium difficile*.

2.1.5. Infektiöse versus nicht-infektiöse Durchfallerkrankung

Die Unterscheidung zwischen der infektiösen und nicht-infektiösen Diarrhoe spielt vor allem im Klinikalltag hinsichtlich der Frage nach einer notwendigen Isolation des Patienten eine entscheidende Rolle. Im Allgemeinen unterteilt man in nicht-entzündliche und entzündliche Diarrhoe (Lankisch et al. 2006).

Die **nicht-entzündliche Diarrhoe** ist dabei durch eine kurze Inkubationszeit mit Symptombeginn wenige Stunden nach Aufnahme eines Toxins gekennzeichnet. Im Stuhl sind, im Gegensatz zur infektiösen Diarrhoe weder Leukozyten noch Leukozytenmarker vermehrt nachweisbar. Erbrechen und Fieber sind aufgrund fehlender Erregerinvasion selten. Typische Beispiele sind Enteritiden durch *Staphylococcus-aureus*-Toxin nach Softeisverzehr, Enterotoxin bildende *E. coli* (ETEC), *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, Noroviren oder *Vibrio cholerae*.

Die **entzündliche Diarrhoe** dagegen ist durch Fieber, häufiges Erbrechen, dem Nachweis von Leukozyten bzw. Leukozytenmarker im Stuhl und gelegentlich blutigem Stuhl charakterisiert. Die IKZ beträgt hier ca. 16 bis 48 Stunden. Häufige einheimische Erreger sind die endemisch auftretenden Enteritis-Salmonellen und *Campylobacter jejuni*, durch den Genuss roher Eier bzw. rohen Fleisches hervorgerufen. Seltene Ursachen sind meist importierte EHEC, Shigellen und Amöben.

2.1.6. Erreger

Durchfallerkrankungen werden von verschiedenen Krankheitserregern verursacht, deren Bandbreite von Bakterien und Viren bis hin zu Protozoen und Würmern reicht.

Durch **Bakterien und ihre Toxine** hervorgerufene infektiöse Durchfallerkrankungen findet man bei folgenden Durchfallerkrankungen (Herold et al. 2006):

- *Escherichia coli* (EC):
 - Enterotoxinbildende EC (ETEC): In ca. 40 % d. F. Erreger der Reisediarrhoe
 - Enteroinvasive EC (EIEC): Dysenterieartige Durchfälle mit Tenesmen und breiigen evtl. blutigen Darmentleerungen
 - Enterohämorrhagische EC (EHEC)
 - Enteropathogene EC (EPEC): Säuglingsdiarrhoe
 - Enteroaggregative EC (EAEC): Enteritis bei Säuglingen und Kleinkindern
- *Yersinia enterocolitica* (selten *Y. pseudotuberculosis*): Kolikartige Bauchschmerzen (DD: Appendizitis), ev. Arthralgien und Erythema nodosum
- *Clostridium difficile*: Erreger der antibiotika-induzierten pseudomembranösen Colitis
- *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* und *Clostridium perfringens*: Toxinbildner, Auslösung der sog. Lebensmittelvergiftung nach kurzer IKZ von wenigen Stunden
- *Campylobacter jejuni*: in ca. 5-10 % Erreger der Reisediarrhoe
- Salmonellen (häufig): in ca. 5-10 % Erreger der Reisediarrhoe
- Shigellen: in ca. 5-10 % Erreger der Reisediarrhoe
- *Vibrio cholerae*

Durch **Viren** hervorgerufene infektiöse Durchfallerkrankungen werden vorwiegend durch folgende Erregerarten ausgelöst (Herold et al. 2006):

- Rotaviren (70 % der infektiösen Diarrhoen bei Kindern, v.a. in Entwicklungsländern eine Ursache der Kindersterblichkeit),
- Adenoviren,
- Norwalk-like Viren, sog. Noroviren: Auslöser der Gastroenteritis

Bei anhaltender Diarrhoe und positiver Reiseanamnese sollte immer auch nach den beiden erstgenannten **Protozoen** gefahndet werden, während Kryptosporidien insbesondere bei immunsupprimierten Patienten eine Rolle spielen (Herold et al. 2006):

- Giardia lamblia
- Entamoeba histolytica
- Cyclospora cayentensis
- Isospora belli

Auch **Helminthen (Würmer)** können Auslöser einer Diarrhoe sein.

- Plathelminthen (Plattwürmer): Trematoden (Saugwürmer), Zestoden (Bandwürmer),
- Nematoden (Rundwürmer): Oxyuriden, Ascariden, Trichinellen, Filarien (Fadenwürmer).

2.1.7. Infektiosität und Kontagiosität

Eine entscheidende Frage bei der Aufnahme eines Patienten, der mit dringendem Verdacht auf eine akute infektiöse Diarrhoe in die Klinik eingeliefert wird, ist immer auch die Frage nach dem adäquaten Hygienemanagement. Dies resultiert aus den unterschiedlichen Eigenschaften der Erreger hinsichtlich ihrer Infektiosität und Kontagiosität.

Während für die Auslösung bakterieller Infektionen, wie z.B. Salmonellosen, eine sehr hohe Keimzahl erforderlich ist und sich die Bakterien in der Regel zunächst in der Nahrung vermehren müssen, um ihre Wirkung entfalten zu können, zeichnen sich Virusinfektionen, insbesondere durch Noro- und Rotaviren, durch eine geringe infektiöse Dosis von weniger als 100 Viruspartikeln aus, die Viren verfügen somit über eine viel höhere Infektiosität.

Zu berücksichtigen sind auch die Unterschiede in der Kontagiosität. Bei bakteriellen Infektionen, wie der Salmonellose, ist eine direkte Übertragung von Mensch zu Mensch eher unüblich und trotz hoher Ausscheidungsraten an Bakterien über den Stuhl kommt es nur in seltenen Fällen und bei gemeinsamer Toilettenbenutzung zu einer Ansteckung.

Primäre Infektionsquelle sind hier kontaminierte Nahrungsmittel, wobei die Magensäure eine bakterizide Wirkung hat. Diese natürliche Barriere kann, wie schon zuvor erwähnt, nur durch sehr hohe Keimzahlen überwunden werden: Für die Infektion eines gesunden Erwachsenen sind, ganz im Gegensatz zu einer Virusinfektion, im Mittel mehr als 100.000 Bakterien erforderlich.

Bei Virusinfektionen hingegen besteht die Möglichkeit einer aerogenen Erregerübertragung. Personen im Umfeld des Patienten können somit leicht durch die sog. Tröpfcheninfektion infiziert werden, was zu einer weitaus höheren Kontagiosität und somit einer großen Relevanz v. a. im Klinikalltag hinsichtlich der Frage nach der Isolationspflichtigkeit des Patienten beiträgt.

2.1.8. Meldepflicht

Für einige Erreger besteht nach Angaben des RKI (Epidemiologisches Bulletin, 2008) in Deutschland eine Meldepflicht. Namentlich hat diese bei Infektionen durch *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *E.coli*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* und Adeno-, Rota- und Noroviren zu erfolgen. Ein Verdacht auf eine Erkrankung durch diese Erreger ist nur dann meldepflichtig, wenn der Betreffende im Lebensmittelbereich tätig ist oder die Erkrankung im Rahmen einer Epidemie (zwei oder mehrere gleichartige Erkrankungen) auftritt. Hingegen besteht bei Typhus, Paratyphus und Cholera schon beim begründeten Verdacht wie auch bei Erkrankung, Tod und Ausscheidung eine namentliche Meldepflicht.

2.1.9. Isolation

Durch die hohe Umweltresistenz (Tenazität), die eingeschränkte Empfindlichkeit gegenüber üblichen Desinfektions- und Reinigungsmitteln, einer extrem kurzen Inkubationszeit von ca. 10-50 Stunden (Norovirusinfektionen), hoher Infektiosität und Kontagiosität, kurzer Immunität und steigender Virulenz, wie z.B. durch die neue Grimsby-like Genotyp-Variante bei Norovirusinfektionen ausgelöst (Schneider et al. 2007), ist ein striktes adaptiertes Hygieneregime die wichtigste und vordringlichste Maßnahme im Kampf gegen die Verbreitung von Durchfallerkrankungen im Krankenhaus und anderen sozialen Einrichtungen (z.B. Altenheime).

Ebenso haben in den vergangenen Jahren, insbesondere in Krankenhäusern, nosokomiale Infektionen durch *Clostridium difficile* an Bedeutung gewonnen. Auslöser der Erkrankung

sind in der Regel Antibiotikatherapien, Chemotherapien und große bauchchirurgische Eingriffe. In der Mehrzahl der Fälle kommt es zum „antibiotika-assoziierten Durchfall“ (AAD) und der Pseudomembranösen Colitis (PMC). Den aktuellen AWMF-Empfehlungen zufolge zeichnet sich eine deutliche Häufung von Fällen in Krankenhäusern ab, die vermehrt neuere Gyrasehemmer der Klasse der Fluorochinolone einsetzen.

Die Verhinderung der Ausbreitung dieses nosokomialen Problemkeims ist entscheidend bei der Prävention einer CD-Erkrankung im Krankenhaus, wobei die Fähigkeit der Clostridien zur Sporenbildung das zentrale Problem darstellt.

Auch am Klinikum der FSU Jena wird demzufolge nach strikten Hygienevorschriften gearbeitet und die Isolation im Verdachtsfall noch vor der Bestätigung durch die mikrobiologische Routinediagnostik eingeleitet. Zu diesen Isolationsmaßnahmen gehören u. a. die Einzelzimmerpflege oder Kohortenisolierung und die Kontaktisolation mit Schutzkitteln, Handschuhen und Mundschutz (vgl. Anhang, Isolierungsmaßnahmen am Klinikum der FSU Jena).

2.2. Diagnostik der Durchfallerkrankung

2.2.1. Anamnese und klinische Untersuchung

Im Allgemeinen beruht eine begründete Verdachtsdiagnose in bis zu 80 Prozent auf der Anamnese des Patienten (Miksits, 2005). Dies verdeutlicht, wie wichtig die Befragung jedes einzelnen Patienten im Verlauf der Diagnosestellung ist – so auch bei Patienten mit akuter Diarrhoe.

Die Anamnese beinhaltet unter anderem die Beschreibung der Diarrhoe (Dauer, Frequenz, Konsistenz, Volumen, Farbe, Beimengungen, begleitende Abdominalschmerzen, Diarrhoe auch unter Fasten), die Frage nach dem Stuhlvolumen (häufiges Absetzen kleiner Stuhlmengen deutet eher auf eine Erkrankung des distalen Kolons bzw. Rektosigmoids hin, große Stuhlmengen eher auf eine Dünndarm- oder Pankreaserkrankung), nach den Beschwerden in Bezug auf die Nahrungsaufnahme oder nach einem möglichen Zusammenhang zur aktuellen Medikamenteneinnahme, der Reiseanamnese, der Arbeits- und Wohnungssituation oder den Voroperationen bzw. Vorerkrankungen des Patienten (vgl. Anhang).

Sobald genügend anamnestische Hinweise auf eine infektiöse Diarrhoe vorliegen beginnt in der Praxis die klinische Untersuchung. Diese beinhaltet zunächst die Bewertung des

Hydratationszustandes, des Abdominalbefundes, der Vitalparameter (HF, RR, Temperatur) und eventueller extraintestinaler Symptome.

2.2.2. Indikation zur weiteren Diagnostik

Aufgrund der gesammelten anamnestischen Informationen kann der Kliniker schlussendlich die Indikation zur weiteren abklärenden Diagnostik stellen. Vor dem Hintergrund zahlreicher Studien gelten z.Z. folgende Kriterien (Lankisch et al. 2006):

- Profuse Durchfälle, die zur Dehydratation führen
- Blutiger Stuhl
- Fieber > 38,5 °C
- Dauer der Durchfälle > 48 Stunden ohne klinische Besserung
- Mehrere Patienten mit akuten Durchfällen in der Umgebung
- Assoziation mit heftigen Bauchschmerzen
- Ältere Patienten > 70 Jahre, kleine Kinder u./od. immungeschwächte Patienten
- Vorausgegangener Auslandsaufenthalt, insbesondere in südlichen, meist subtropischen/ -tropischen Ländern.
- Beschäftigte in lebensmittelrelevanten Bereichen bzw. im Gesundheitswesen

2.2.3. Laboruntersuchungen

- Fäkale Mikroskopie auf Leukozyten

Diese traditionelle Methode der Untersuchung von Stuhlkulturen auf Leukozyten mit Hilfe einer Methylenblau-Färbung wird seit dem Ersten Weltkrieg genutzt (Miller et al. 1994). Obwohl der Test zunächst als schnell durchführbar, überall erhältlich und sensitiv galt, beinhaltete er schon damals mehrere signifikante Einschränkungen. So setzte er ein Mikroskop und einen geschulten Mikroskopierenden voraus. Weiterhin musste die Untersuchung mit frischem Probenmaterial erfolgen, da die morphologischen Charakteristika der Leukozyten unter den meisten Sammel- und Aufbewahrungsbedingungen verloren gingen (Korzeniowski et al. 1979). Im weiteren Verlauf zeigte sich dann wiederholt die niedrige Sensitivität dieser Untersuchungsmethode (Bauer et al. 2001, Fan et al. 1993, Kane et al. 2003, Koplan et al. 1980) .

- Stuhlkultur auf pathogene Keime

Obwohl ihre Effektivität in letzter Zeit immer wieder angezweifelt wurde, gilt die Stuhlkultur aktuell immer noch als Goldstandard (Koplan et al. 1980, Morris et al. 1996, Siegel et al. 1990, Talan et al. 1998), um nachzuweisen, ob es sich bei einer akuten Diarrhoe ursächlich um eine infektiöse (bakterielle) Diarrhoe handelt. Hierbei ist es sinnvoll, dass der Stuhl möglichst innerhalb von zwei Stunden verarbeitet wird. Durch unnötige Lagerung, Temperaturschwankungen und einer verspäteten Bearbeitung, die durchaus dem klinischen Alltag entsprechen kann, kommt es häufig dazu, dass der mikrobiologische Nachweis darmpathogener Keime nur in lediglich 1,5% - 3,4% zu erwarten ist. Zudem liegt das Ergebnis der mikrobiologischen Stuhlkultur frühestens nach 48 bis 72 Stunden vor (Silletti et al. 1996). Ein positiver Erregernachweis kommt somit sowohl für eine eindeutige Diagnose, für die Beantwortung der Frage nach Isolationspflicht als auch für die nachfolgende adäquate Therapieentscheidung oft zu spät.

2.3. Laktoferrin in der Diagnostik bakterieller Diarrhoen

2.3.1. Laktoferrin

Laktoferrin ist ein eisenbindendes Glykoprotein, das in vielen Körperflüssigkeiten, wie z.B. menschlicher Milch, Tränenflüssigkeit, Synovialflüssigkeit und Serum, v. a. aber in sekundären Granula polymorphkerniger Neutrophiler enthalten ist und während entzündlicher Prozesse durch Degranulation aus den meisten Schleimhäuten freigesetzt wird, was dann zu einem Anstieg der Laktoferrinkonzentration, v. a. im Stuhl, führt (Leffell und Spitznagel 1972, Masson et al. 1969). Als Bakterizid besitzt es eine wichtige Rolle in der angeborenen Immunabwehr und unterscheidet als Entzündungsmarker entzündliche von nicht-entzündlichen Durchfallerkrankungen (Kane et al. 2003, Tibble und Bjarnason 2001).

2.3.2. Laktoferrin als Gegenstand der Forschung

Die Tatsache, dass weltweit im Durchschnitt Menschen bis zu sechs mal im Jahr von Durchfallerkrankungen betroffen sind, mit der Routinestuhldiagnostik jedoch sowohl eine niedrige Sensitivität als auch hohe Kosten verbunden sind (Koplan et al. 1980), erforderte neue diagnostische Strategien bei der akuten infektiösen Diarrhoe.

Guerrant et al. begann 1985 in seinem Bericht zur „Evaluation and Diagnosis of acute infectious diarrhea“ diese Problematik aufzuzeigen. In den kommenden Jahren folgte eine

Reihe neuer Ansätze, darunter auch 1992 der im Journal of Clinical Microbiology veröffentlichte Artikel „Measurement of fecal lactoferrin as a marker of fecal leucocytes“. Guerrant et al. beschrieb hier erstmals, mit dem von ihm entwickelten und von Techlab, Blacksburg hergestellten LFLA-Test, einen einfachen, sensitiven Test zur Aufspürung fäkaler Leukozyten in Stuhlproben. In den folgenden Jahren wurden mehrfach Artikel publiziert, in denen davon gesprochen wurde, dass der LFLA-Test womöglich hinsichtlich der Unterscheidung zwischen nicht-entzündlicher und entzündlicher Diarrhoe von Nutzen sein könnte (Miller et al. 1994, Yong et al. 1994).

Im Artikel „To Culture or Not To Culture: Fecal Lactoferrin Screening for Inflammatory Bacterial Diarrhea“ (Choi et al. 1996) wird dem LFLA-Test ebenfalls ein womöglich sehr hoher Nutzen im Screening von Stuhlkulturen zugeschrieben, um Patienten herauszufiltern, deren Stuhl unbedingt einer Routinestuhldiagnostik zugeführt werden sollte.

Andererseits wird hier auch deutlich, dass jeglicher entzündlicher Prozess zu einem erhöhten LF-Titer führt, womit ein LF-Anstieg nicht spezifisch für eine infektiöse Diarrhoe ist.

In einer 2007 veröffentlichten Studie versagte die LF-Bestimmung zur Unterscheidung zwischen nicht-entzündlicher und entzündlicher Diarrhoe (Ashraf et al. 2007), was vorwiegend mit dem Patientenkollektiv (Entwicklungsland, 45% Kinder < 2 Jahren) erklärt worden war.

1996 wurde von Huicho et al. eine Metaanalyse zu Fäkalen Screeningtests im Zusammenhang mit akuter infektiöser Diarrhoe veröffentlicht (Huicho et al. 1996). Es wurden 25 bisherige Studien zu diesem Thema eingeschlossen und verglichen. Am Ende wurde unter anderen Tests (FOBT, fäkale Leukozyten, Vergleich klinische Daten) der LFLA-Test als bester Indextest gewertet, jedoch unter der strengen Auflage, dass weitere Studien nötig sind, um diese Aussage zu festigen. Da der LF-Test hinsichtlich der Abklärung infektiöser Diarrhoen einen vielversprechenden Ansatz darstellt, wurde er in dieser Studie nochmals unter klinischen Routinebedingungen überprüft.

2.4. Prävention

2.4.1. Patientenisolation

Besteht bei Aufnahme eines Patienten der dringende Verdacht auf eine akute infektiöse Diarrhoe so impliziert dies grundsätzlich, noch vor der Bestätigung der Verdachtsdiagnose durch den mikrobiologischen Befund, die Isolationspflichtigkeit des Patienten. Verlegungen von Patienten in nicht betroffene Bereiche bis 3 Tage nach Ende der Akutsymptomatik sollte vermieden werden. Bei nicht vermeidbaren Verlegungen bzw. Patiententransporten sollte eine frühzeitige Vorabinformation stattfinden.

Die durch zeitweilige Schließung von Stationen und Freistellung von Mitarbeitern verursachten ökonomischen Belastungen sind dabei in Relation zu den vielfach höheren Kosten eines unkontrollierten Ausbruchs zu sehen.

2.4.2. Hygienemaßnahmen

Eine der wichtigsten Maßnahmen zur Vorbeugung einer infektiösen Darmerkrankung stellt die Verbesserung der Hygienestandards und die Vermeidung von Umweltverschmutzung dar. Ein eindrucksvolles Beispiel hierfür ist die Reduktion der Erkrankungsrate an akuter Diarrhoe internationaler Reisender in Jamaika durch eine konsequente Verbesserung der Hygiene (Ashley et al. 2004, Steffen et al. 1999).

In der BRD wird in den Kliniken v. a. auf eine gründliche Händedesinfektion Wert gelegt, um eine Verbreitung infektiöser Erreger zu verhindern.

Kontaminierte Räume und Kontaktflächen sollten im Rahmen einer weitläufigen Flächendesinfektion mit aldehydhaltigen Reinigungsmitteln behandelt werden. Zusätzlich sollte eine separate Wäscheentsorgung und die Reinigung bei $> 60^{\circ}\text{C}$ erfolgen.

2.4.3. Freistellung von erkranktem Personal

Um die Verbreitung einer Durchfallerkrankung innerhalb des Klinikums zu vermeiden wird betroffenes Personal bis 2-3 Tage nach Ende der Akutsymptomatik vom Dienst freigestellt.

2.4.4. Beschränkung der Personalbewegung

Auf Infektionsstationen sollte möglichst keine Rotation zwischen betroffenen und nichtbetroffenen Bereichen stattfinden, um die Gefahr einer Erregerverbreitung möglichst gering zu halten.

2.4.5. Information

Viele Patienten und Besucher auf Station wissen nur wenig über die Übertragungswege und die Vermeidung weiterer Ansteckung durch Durchfallerreger. Deshalb sollte viel Wert auf eine ausführliche Patienten- bzw. Besucherinformation gelegt werden und ggf. eine Einschränkung des Besuchsverkehrs erfolgen.

Auch das Krankenhauspersonal der betroffenen Einrichtung einschließlich Reinigungskräfte, Mitarbeiter in der Diagnostik und dem Krankenhaustransport sowie das Küchenpersonal sollten in den Verfahrensplan bei Verdacht auf infektiöse Durchfallerkrankungen aufgenommen und in Kenntnis gesetzt werden.

Die Abrundung der Informationskette erfolgt durch die „Arztmeldung“ innerhalb von 24 Stunden nach §6 Abs. 1 Nr. 2 des Infektionsschutzgesetzes an das zuständige Gesundheitsamt.

3. Ziele der Arbeit

3.1. Primäres Ziel

Im Mittelpunkt der Arbeit steht die Frage, ob durch die semiquantitative Bestimmung der fäkalen Laktoferrinkonzentration im Stuhl bei Patienten, die mit V. a. eine infektiöse Diarrhoe in die Klinik aufgenommen werden, eine infektiösen Diarrhoe ausgeschlossen werden kann.

3.2. Sekundäre Ziele

Zu überprüfen ist, ob durch diese LF-Studie sowohl Aussagen über Erkrankungen, die durch Bakterien und Viren ausgelöst wurden, als auch über Erkrankungen, die durch Infektionen mit Toxin bildenden Clostridien ausgelöst wurden, gemacht werden können.

Zudem wäre zu klären, inwiefern sich die Ergebnisse der LF-Studie auf die Kostenkalkulation auswirken, d. h. ob sich bei Patienten, die mit Verdacht auf eine infektiöse Diarrhoe in die Klinik eingewiesen werden, durch Bestimmung der Höhe des Laktoferrin-Titers in Stuhlproben unnötige Stuhlkulturen vermeiden lassen.

Wichtig zu wissen wäre auch, in welcher Hinsicht sich die Ergebnisse der LF-Studie auf das Hygienemanagement auswirken und ob der LF-Test somit als „Schnelltest“ in der Entscheidung über eine Patientenisolierung den Stationsärzten in der Klinik eine Hilfestellung geben könnte

4. Methodik

4.1. Studiendesign

Es handelte sich um eine prospektive klinisch-statistische Auswertung, die in enger Zusammenarbeit zwischen den Stationen 461 (Gastroenterologie- und Hepatologie) und 500 (Infektiologie) der Klinik für Innere Medizin II, dem Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik und dem Institut für Medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums der Friedrich-Schiller-Universität Jena unter klinischen Routinebedingungen durchgeführt wurde.

4.2. Ein- und Ausschlusskriterien

Um eine Vergleichbarkeit mit vorherigen Studien herzustellen wurde als Definition der akuten Diarrhoe eine Durchfallerkrankung mit einer Dauer von <14 Tagen und einer Stuhlentleerungsfrequenz von $> 3/d$ festgelegt. Ausgeschlossen wurden alle Patienten, bei denen es sich um eine chronische Diarrhoe handelte, d. h. Patienten, bei denen die Durchfallerkrankung die Dauer von 14 Tagen überschritt bzw. die Stuhlentleerungsfrequenz die Grenze von $3/d$ unterschritt. Das Alter der Patienten wurde auf 16 Jahre und älter festgelegt.

4.3. Patientenkollektiv

Insgesamt wurden 165 Patienten, verteilt auf die obig genannten Stationen untersucht, wovon 87 weiblich und 78 männlich waren. Das Alter der Patienten lag dabei zwischen 18 und 91 Jahren, wobei der Mittelwert 56 und der Median 62 Jahre betrug.

Die Auswahl der Patienten erfolgte anhand klinischer Gesichtspunkte (vgl. Anamnesebogen im Anhang) und den festgelegten Ein- bzw. Ausschlusskriterien durch die Aufnahmeärzte der jeweiligen Stationen. Am Wochenende bzw. an Feiertagen wurden entsprechende Patienten nach Beurteilung durch das Pflegepersonal aufgenommen. Hierfür erfolgten in den Stationsbesprechungen regelmäßige Schulungen.

4.4. Untersuchungsmaterialien

Zur Auswertung kamen insgesamt 137 Stuhlproben von Patienten/innen, die unter dem Verdacht auf eine akute infektiöse Diarrhoe stationär auf die Abteilungen der

Gastroenterologie und Hepatologie bzw. Infektiologie der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums der Friedrich-Schiller-Universität Jena aufgenommen wurden.

4.5. Studiendurchführung

4.5.1. Zeitrahmen

Im Zeitraum vom 16.08.2007 -21.04.2009 wurden bei erwachsenen Patienten, die auf eine der beiden obig genannten Stationen aufgenommen wurden, jeweils gleichzeitig zwei Stuhlkulturen abgenommen. Eine davon wurde in das Institut für Medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums der FSU geschickt, wo eine Stuhlkultur angelegt wurde und die Virusdiagnostik und die C. diff. Toxin-Diagnostik initiiert wurde. Die andere Stuhlprobe wurde parallel dazu in das Institut für Klinischen Chemie und Laboratoriumsdiagnostik des Universitätsklinikums der FSU verbracht, um dort mit dem LFLA-Test die Laktoferrinkonzentration im Stuhl zu bestimmen.

4.5.2. Stuhlprobengewinnung- und Weiterverarbeitung

Die Stuhlkulturen wurden aus dem ersten abgesetzten Stuhl nach erfolgter stationärer Aufnahme gewonnen. Dabei wurde immer ein Stuhlprobenröhrchen an das mikrobiologische Institut verschickt und dort nach den üblichen Methoden kultiviert.

Die mikrobiologische Routineuntersuchung bestand hierbei aus einer Untersuchung auf Shigellen, Salmonellen, Campylobacter oder Yersinien, dem Nachweis von Clostridium difficile-Toxin und dem Nachweis von Adeno-, Rota- bzw. Noroviren.

Bei Patienten mit persistierender Beschwerdesymptomatik mit anhaltenden Durchfällen, Fieber, Bauchkrämpfen und Gewichtsverlust wurde trotz negativer Stuhlkultur oder positiver Reiseanamnese eine Diagnostik auf Parasiten angeschlossen.

Das andere, parallel abgenommene Stuhlprobenröhrchen wurde an das Labor der klinischen Chemie verschickt. Dort wurden die gesammelten Stuhlproben jeweils gekühlt bis zur Testung aufbewahrt und danach bei -70°C zu Lagerungszwecken tiefgefroren.

Die Detektion des Laktoferrins erfolgte mit dem Leuko-Test®, einem Latex-Agglutinationstest der Firma TechLab (Corporate Research Park, 1861 Pratt Drive, Blacksburg, VA 24060, USA) in einer Verdünnung von 1:50 und 1:200 mit gleichzeitiger Positiv- und Negativ-Kontrolle. Die Durchführung des Tests wurde nach den Angaben des Herstellers von geschulten MTAs durchgeführt.

4.5.3. Kostenanalyse

Die Kosten für die Durchführung der mikrobiologischen Routinediagnostik wurden nach den aktuell gültigen internen Verrechnungsvorlagen des Institutes für Medizinische Mikrobiologie der FSU Jena berechnet.

Die allgemeine Stuhluntersuchung kostete 57,69 Euro, der Bakteriennachweis etwa 80,- Euro, eine Anzüchtung von Adeno-, Rota- bzw. Noroviren jeweils 14,57 Euro (insg. 43,71 Euro), eine Untersuchung auf CDT ebenfalls 14,57 Euro. Somit kostete eine mikrobiologische Routinestuhldiagnostik am Universitätsklinikum der FSU Jena insgesamt 195,- Euro. Eine erweiterte Diagnostik hinsichtlich der Klärung einer parasitären Besiedlung des Darmes kostete im Mittel laut Angaben des Institutes für Medizinische Mikrobiologie der FSU Jena zusätzlich 25,49 Euro.

Der Listenpreis für 50 LF-Tests hingegen lag nach Rücksprache mit der Herstellerfirma bei 176,- Euro, was eine Einzelsumme von ca. 3,50 Euro pro Schnelltest ergab. Hierzu kam noch die Bearbeitungszeit von insgesamt 15 Minuten, die eine MTA zur Durchführung des Tests aufwenden musste. Bei einer laut dem Geschäftsbereich Rechnungswesen und Controlling veranschlagten Einberechnung der Bezahlung einer MTA von 40cent/min entstanden zusätzliche Bearbeitungskosten von 6,- Euro. Insgesamt musste somit mit 9,50 Euro pro Schnelltest gerechnet werden.

Die Kosten, die im Rahmen der Patientenisolation entstehen, setzten sich vorwiegend aus den Kostenausfällen zusammen, die sich dadurch ergaben, dass die betroffenen Patienten in Einzelzimmern untergebracht werden müssen und freie Betten im Zimmer nicht mehr zur Unterbringung von weiteren Patienten zur Verfügung stehen.

Bei einem laut Rechenwesen und Controlling der FSU Jena durchschnittlichen Erlös von 371,- Euro pro stationärem Fall pro Tag auf den beiden Stationen der Abteilung für Gastroenterologie/Hepatologie/Infektiologie während des angegebenen Untersuchungszeitraums konnte, im Falle einer Aufnahme eines Patienten mit Verdacht auf akute infektiöse Diarrhoe und einer Isolationspflichtigkeit während der Dauer bis zur Befundung der Routinestuhldiagnostik nach in der Regel 3 Tagen, ein Kostenausfall von mindestens 1113,- Euro entstehen.

Bei positivem mikrobiologischen Befund und einer anschließenden durchschnittlichen Aufenthaltsdauer des Patienten von 7,2 Tagen (mittlere Verweildauer der Patienten in der Abteilung für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie 2009) resultierte pro infektiösem Patienten ein Kostenausfall von ca. 2671,20 Euro.

4.6. Methoden

4.6.1. Mikrobiologische Routinediagnostik

Die mikrobiologische Untersuchung der Stuhlproben auf darmpathogene Keime wurde im Institut für Medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Jena nach dortigen Standards durchgeführt. Dabei dauerte die Erregeranzucht der genannten Keime in der Regel drei bis vier Tage. Die Routine-Mikrobiologie bestand aus der Untersuchung auf folgende pathogene Darmkeime:

- **Bakterien:** - Shigellen
 - Salmonellen
 - Campylobacter
 - Yersinien
- **Viren:** - Adeno-, Rota-, Noroviren
- **Toxin:** - Clostridium difficile Toxin (CDT)

4.6.2. Laktoferrin Latexagglutinationstest

Der ursprünglich von Guerrant et al. entwickelte und beschriebene Laktoferrin Latex Agglutination (LFLA) Assay (Guerrant et al. 1992), dient dem Nachweis von Laktoferrin in Stuhlproben und wurde genau nach der Gebrauchsanweisung des Herstellers (Leuko-Test®, Techlab Inc, Blacksburg, Virginia) durchgeführt. Die untersuchenden MTAs wurden hinsichtlich jeglicher Patientendaten wie demographischer, klinischer und mikrobiologischer Befunde verblindet.

Die Durchführung des Tests wird im Folgenden beschrieben:

Zubereitung der verdünnten Proben:

Für die Untersuchung wurde je ein Plastik-Reagenzglas für jede zu testende Probe benutzt, dem dann 2,5 mL Verdünnungspuffer zugesetzt wurde. Mit einer Einweg-Pipette wurde dann je ein Tropfen (50µl) der flüssigen Stuhlprobe in das Reagenzglas gegeben und mit einem Vortex-Schüttler gut durchgemischt. Daraus resultierte dann eine Verdünnung der Proben von 1:50. Zeitgleich wurden die Agglutinationskarten vorbereitet.

Mischen der Proben und Reagenzien

Die Verdünnungen wurden noch vor dem Gebrauch im Vortex-Schüttler gemischt.

Für jede Stuhlprobe existierten zwei Reaktionsfelder (Probe und Negativ-Kontrolle). Pro

Testgruppe gab es eine Positiv-Kontrolle. Es erfolgte die Zugabe von je 1 Tropfen Latexreagenz auf eines der Testfelder mit Positiv-Kontrolle und auf je eines der Testfelder mit der Stuhlprobe. Danach folgte die Zugabe von je 1 Tropfen Negativ-Kontrollreagenz auf jedes zweite Probenfeld.

Anschließend erfolgte die Zugabe von 1 Tropfen Positiv-Kontrolle auf das Testfeld der Positiv-Kontrolle und die Zugabe von 1 Tropfen verdünnter Probe auf je 2 korrespondierende Probenfelder.

Inkubation der Proben/Latex Mischungen:

Diese erfolgte dadurch, dass die Agglutinationskarten bei Raumtemperatur für drei Minuten auf ein Rotationsgerät gelegt wurden. Danach wurde das Ergebnis von einer qualifizierten technischen Mitarbeiterin abgelesen und anhand folgender Skala bewertet:

- = keine sichtbare Agglutination
- 1+ = eindeutige deutlich sichtbare feine Agglutination mit milchigem Hintergrund
- 2+ = eindeutige Agglutination mit einem weißen Ringer, der sich am Rand der Flüssigkeit bildet
- 3+ = größere Agglutination mit einem klaren Hintergrund und einem stärker hervortretenden Ring
- 4+ = äußerst deutliche Agglutination mit einem klaren Hintergrund und stark hervortretendem Ring um den Rand

Laut Herstellerangaben sollte die Positiv-Kontrolle mindestens eine Agglutinationsreaktion von 2+ ergeben und die verdünnten Proben, die mit dem negativen Kontrollmittel Latex vermischt wurden, sollten keinerlei sichtbare Agglutination zeigen.

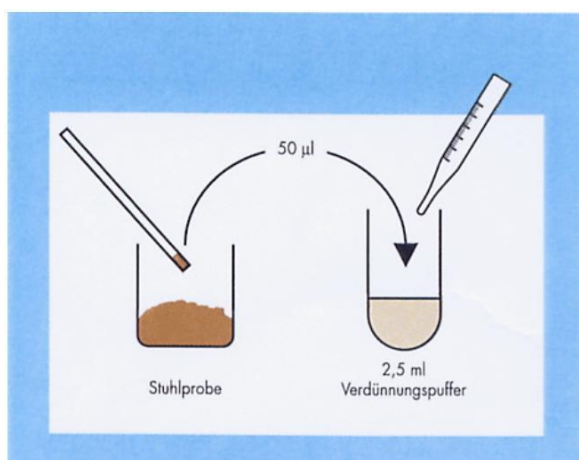


Abb. 2 Zubereitung der verdünnten Proben

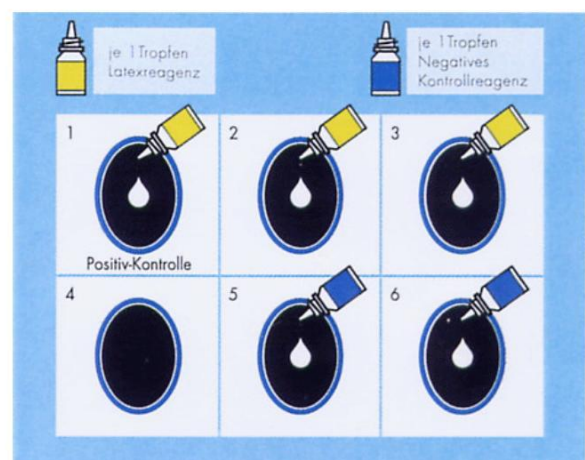


Abb. 3 Mischen der Proben und Reagenzien, Teil I

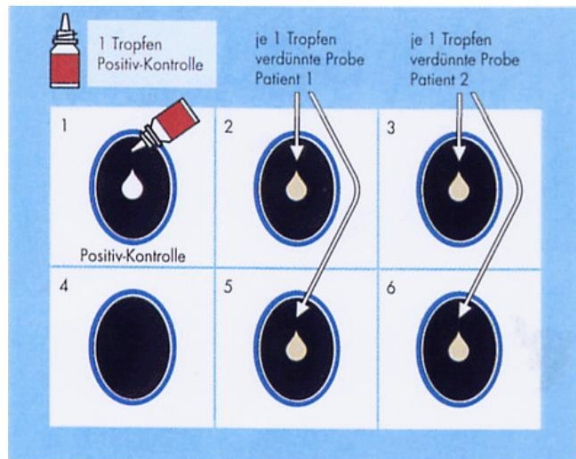


Abb. 4 Mischen der Proben und Reagenzien, Teil II

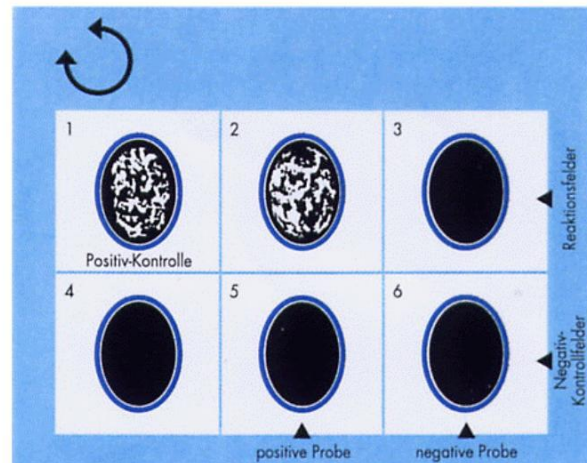


Abb. 5 Inkubation der Proben/Latexmischungen

4.7. Datenerhebung und statistische Auswertung

4.7.1. Datenerfassung- und Verarbeitung

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Routinekultur wurden der entsprechenden Station vom Institut für Medizinische Mikrobiologie der FSU Jena zugeschickt und konnten über das innerklinische Patientendatenerfassungssystem SAP recherchiert werden. Die Ergebnisse der Laktoferrintests wurden gleichzeitig bearbeitet und über das Labor-Daten-System (LDS) des Instituts für klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik aufgezeichnet, archiviert und in SAP übertragen.

CRP-Werte wurden in mg/dl (Normwert < 2 mg/dl), die Leukozytenzahl in 1000/ μ l (Normwert zwischen 4 – 10.000/ μ l) angegeben.

Die endgültige Datenverarbeitung erfolgte mit den Programmen Microsoft Excel und SPSS.

4.7.2. Auswertungskategorien

A. Durchführbarkeit des LF-Testes

Diese wurde in Hinsicht auf den vermuteten Einflussfaktor der Stuhlkonsistenz als auch hinsichtlich der Ein- und Ausschlusskriterien des LF-Testes untersucht.

B. Vergleich der Anzahl der untersuchten Stuhlproben mit dem mikrobiologischen Ergebnis

Bei der Auswertung der Patientenproben wurde zunächst das Ergebnis der Stuhlkultur betrachtet um herauszufinden, in wie vielen Fällen man überhaupt mit einem positiven Erregernachweis durch die mikrobiologische Routinediagnostik zu rechnen hatte.

Des Weiteren sollte herausgefunden werden, welche Erregerarten im Falle einer positiven Stuhlkultur vorzufinden sind und in welcher Häufigkeitsverteilung sie sich vornehmlich darstellen.

C. Vergleich des Laktoferrintiters mit den Ergebnissen der mikrobiologischen Routinediagnostik

Im weiteren Verlauf sollte durch den Laktoferrintest und die Einteilung in zwei verschiedene Verdünnungsreihen (1:50 und 1:200) herausgefunden werden, ob es einen Zusammenhang zwischen der Höhe des LF-Titers und dem Erregernachweis durch die mikrobiologische Routinestuhldiagnostik gibt. Dabei wurden verschiedenen Einteilungen vorgenommen.

Es erfolgte die getrennte Betrachtung invasiver Erreger (Bakterien wie Shigellen, Salmonellen, Yersinien, Campylobacter), Viren (Adeno-, Rota- und Noroviren) und dem Nachweis des CDT.

D. Vergleich der Erregerart einer pos. Stuhldiagnostik mit klinischen Parametern

Um herauszufinden, ob eine Verbindung zwischen klinischen Parametern und dem Vorliegen einer positiven Stuhlkultur besteht, wurden diese Werte miteinander verglichen. Dabei wurden von jedem Patienten die Entzündungsparameter (CRP, Leukozyten, Differentialblutbild), die Elektrolyte (Natrium, Kalium), das Kreatinin (zur Beurteilung der Nierenfunktion) und die Thrombozytenanzahl erfasst und auf eine genaue Anamnese durch die Aufnahmeärzte geachtet.

E. Kostenanalyse des LF-Testes

Anhand der Einzelkosten der jeweiligen Untersuchungsmaterialien erfolgte ein Vergleich der Kosten beider Testverfahren.

4.7.3. Statistische Verfahren

Im Laufe der Auswertung der Ergebnisse wurden über das Programm *SPSS statistics 17.0* mehrere statistische Verfahren angewendet, darunter der χ^2 -Test, die Ermittlung der Prävalenzraten und P-Werte.

Für die Korrelationsanalysen wurden die Korrelationskoeffizienten nach Pearson bzw. Spearman unter Berücksichtigung eines Signifikanzniveaus von 0,05 berechnet.

Zum besseren Verständnis wurden im Ergebnisteil „Mikrobiologie“ zwei der folgenden Datenanalyseprinzipien der medizinischen Statistik angewendet:

- Per-Protokol-Analyse

Hierbei werden bei der Auswertung der Daten nur die Ergebnisse derjenigen Patienten berücksichtigt, bei denen die Untersuchungen prüfplankonform durchgeführt wurden. Ergebnisse von Patienten, die - aus welchen Gründen auch immer – nicht erhoben werden konnten (z. B. zu fester Stuhl), fließen also nicht in die Analyse mit ein.

Im Fall dieser Auswertung wurden also nur die 95 Patientenproben berücksichtigt, die sowohl die Ein- bzw. Ausschlusskriterien erfüllt, als auch aufgrund anderer Ursachen wie zu breiigem Stuhl kein Hindernis in der Durchführung des LF-Testes darstellten.

- Intention-to-treat-Analyse

Das Gegenteil einer Per-Protokol-Analyse ist die Intention-to-treat-Analyse. Hierbei werden die Daten aller Patienten ausgewertet, unabhängig davon, ob die Untersuchungen prüfplankonform durchgeführt wurden oder nicht.

Im Fall dieser Studie wurden also alle 137 Patientenproben berücksichtigt, bei denen jeweils die Routinestuhl Diagnostik durchgeführt worden war.

5. Ergebnisse

Es lagen Ergebnisse aus einem 165-köpfigen Patientenkollektiv zu 184 Stuhlproben vor. Nach Berücksichtigung der Ein- bzw. Ausschlusskriterien wurden die Ergebnisse von 136 Patienten mit 137 ausgewerteten Stuhlproben dargestellt.

5.1. Demographische Daten

5.1.1. Alter und Geschlecht

Die Geschlechterverteilung war mit 74 weiblichen und 62 männlichen Patienten recht ausgeglichen. Das Alter der Patienten bewegte sich dabei zwischen 18 und 91 Jahre, wobei der Durchschnitt bei 57 Jahren lag.

Tab. 2 Verteilung von Alter und Geschlecht

		Geschlecht	
		m	w
Alter [Jahre]	≤ 18	2	2
	19 - 38	12	19
	39 - 58	17	10
	59 - 78	21	27
	79+	10	17

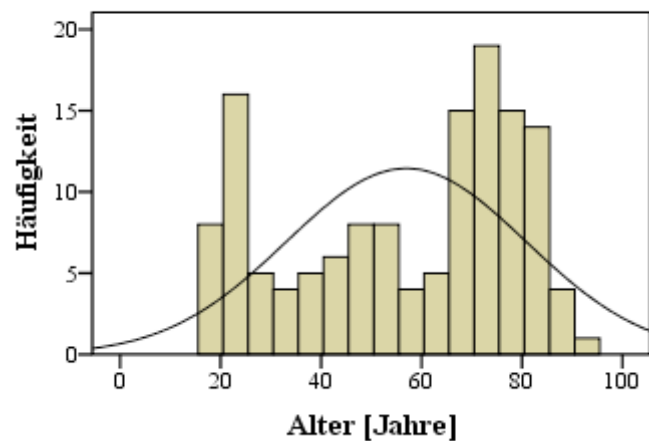


Abb. 6 Histogramm zur Altersverteilung

Bei beiden Geschlechtern lag der Altersgipfel zwischen 59 und 78 Jahren mit einem zweiten Altersgipfel zwischen 39-58 Jahren bei den Männern und 19-38 Jahren bei den Frauen.

5.2. Studienablauf

5.2.1. Durchführbarkeit

Der Testablauf des LFLA-Testes war für die beteiligten MTAs gut nachvollziehbar. Die Durchführbarkeit an sich gestaltete sich einfach, wodurch innerhalb von 15 min das Ergebnis von einer geschulten MTA auf den Agglutinationskarten abgelesen werden konnte. Sofern das Probenmaterial flüssig genug war, stellte die Durchführbarkeit des Tests keinerlei Probleme dar.

Schwierig wurde es, wenn der Stuhl eine breiigere Konsistenz aufwies. Dann wurde das Probenmaterial vom Labor häufig als „zu fest“ angegeben, wodurch die Durchführbarkeit des Tests weder in der 1:50- noch in der 1:200-Verdünnung gewährleistet war, ohne durch zusätzliche Aufschwemmung der Proben eine Verfälschung der Testergebnisse zu induzieren. Insgesamt konnte allein durch eine breiigere Konsistenz der Stuhlproben bei 33 (24%) der 137 ausgewerteten Stuhlproben keine Durchführbarkeit des Testes gewährleistet werden. Dies bedeutet, dass fast in $\frac{1}{4}$ der Fälle aufgrund dieser Problematik keine Testdurchführung erfolgen konnte und diese Proben nicht zur Auswertung herangezogen werden konnten.

Tab. 3 Gegenüberstellung der Durchführbarkeit des LF - Tests und der Stuhlqualität

		Stuhlqualität		
		flüssig	breiig	Total
Durchführbarkeit	Ja	57	38	95
	Nein	9	33	42
	Total	66	71	137

Bei der statistischen Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson bzw. Spearman zeigte sich auf einem Niveau von 0,05 eine signifikante (positive) Korrelation zwischen Stuhlkonsistenz und Durchführbarkeit.

Sowohl bei 7 der 33 breiigen, als auch 3 der 9 flüssigen Stuhlproben, die zur Testdurchführung ungeeignet waren, konnten in der parallel durchgeführten Routinestuhl Diagnostik pathologische Befunde nachgewiesen werden.

Tab. 4 Gegenüberstellung der Mikrobiologie und der Stuhlqualität

	Stuhlqualität					
	flüssig		breiig		Total	
	Anzahl	Häufigkeit	Anzahl	Häufigkeit	Anzahl	Häufigkeit
Mikrobiologie neg.	6	14,3%	26	61,9%	32	76,2%
pos.	3	7,1%	7	16,7%	10	23,8%
Total	9	21,4%	33	78,6%	42	100,0%

Während unter den 33 aufgrund ihrer breiigen Konsistenz nicht zur Durchführung eines LF-Testes geeigneten Proben 3-mal CDT, 2-mal eine Mischinfektion mit Adeno-/Rota- und Noroviren, einmal eine Rotavirusinfektion und einmal eine Infektion mit Campylobacter jejuni nachgewiesen werden konnte, konnte bei den 9 als flüssig bezeichneten Stuhlproben einmal der Nachweis von Salmonellen, einmal der von Rota- und einmal der von Adenoviren erbracht werden.

Tab. 5 Gegenüberstellung des Erregerspektrums und der Stuhlqualität

			Stuhlqualität	
			flüssig	breiig
			Anzahl	Anzahl
Mikrobiologie pos.	Bakterien	Salmonellen	1	0
		Campylobacter	0	1
	Viren	Adenoviren	1	0
		Rotaviren	1	1
		Virale Mischinf.	0	2
	CDT	nachweisbar	0	3
	Parasiten	Gardia lamblia	0	0
			3	7

Somit standen zur endgültigen Auswertung insgesamt 95 Stuhlproben zur Verfügung.

5.2.2. Diarrhoedauer

Bei Betrachtung der zur Auswertung herangezogenen Patientendaten konnte im Mittel eine Diarrhoedauer von 5,23 Tagen evaluiert werden. Der Median lag bei 4,00. Die nächste Abbildung zeigt, dass sich die Diarrhoedauer vor allem im Zeitraum von 3 (32 Patienten) bzw. 4 (22 Patienten) Tagen bewegte.

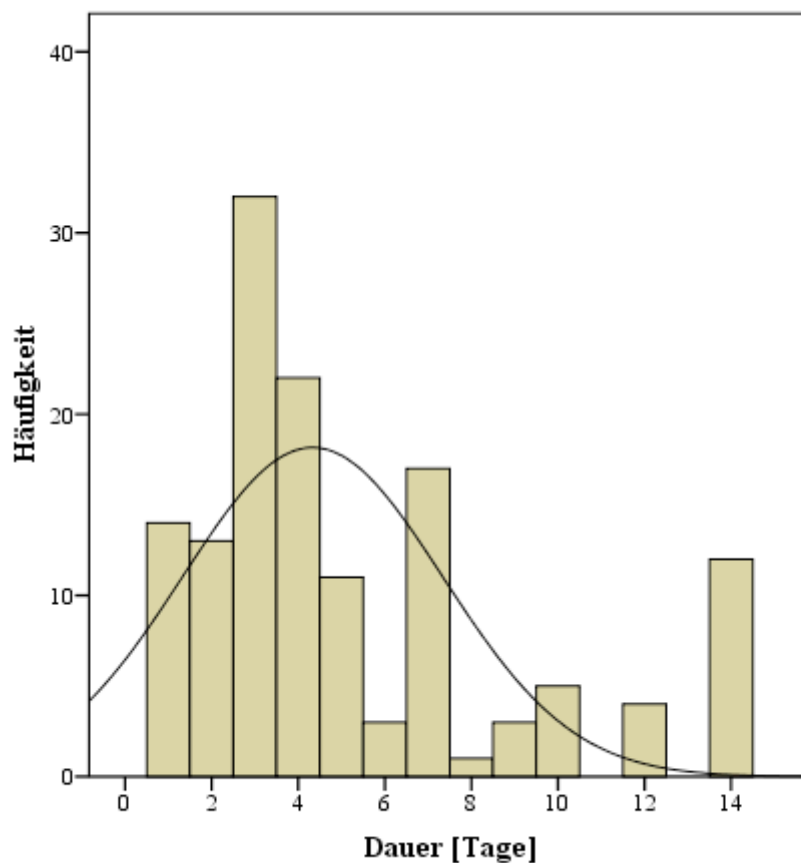


Abb. 7 Diarrhoedauer in Tagen

5.2.3. Stuhlentleerungsfrequenz

Die Anzahl der Stuhlentleerungen pro Tag lag bei Betrachtung des ausgewerteten Patientenkollektivs im Mittel bei 6,43. Der Median betrug genau 4,00. Die folgende Abbildung demonstriert, dass die Häufigkeitsgipfel jedoch im Bereich 3 (40 Patienten) - 4 (30 Patienten) Stuhlentleerungen pro Tag angesiedelt waren.

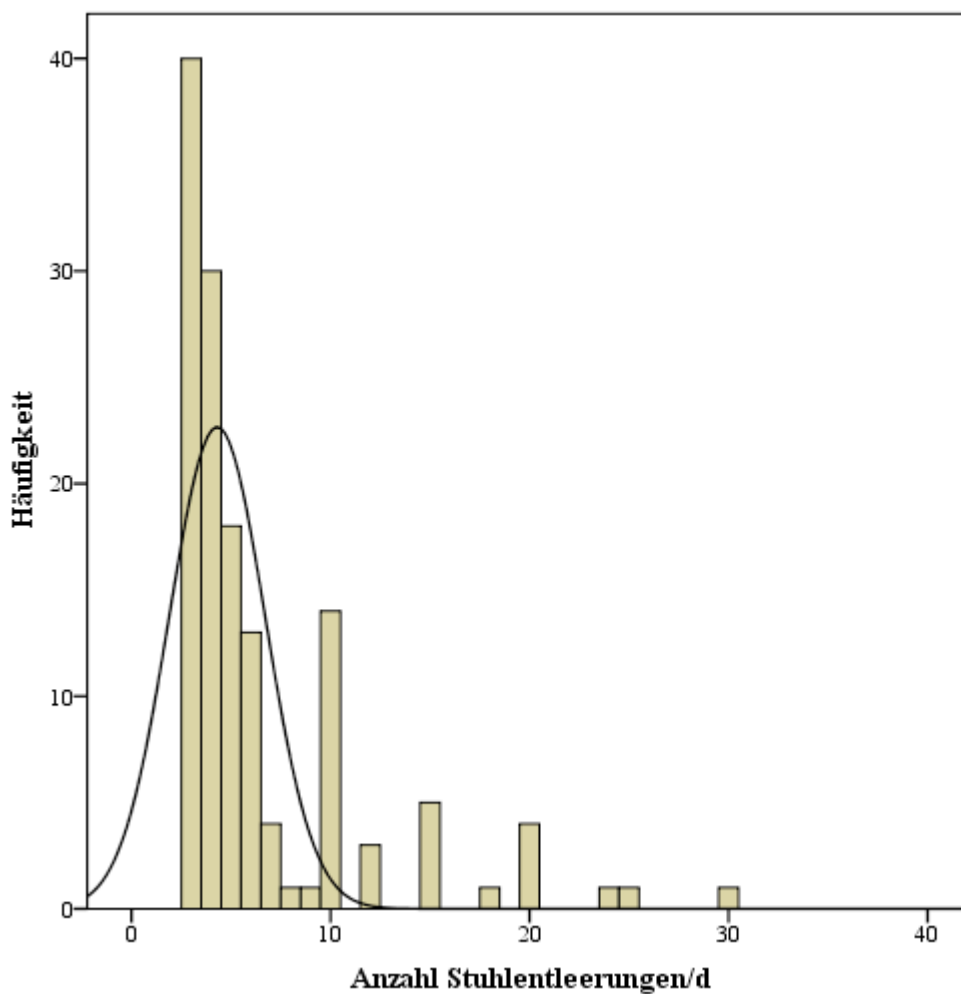


Abb. 8 Darstellung der Verteilung der Stuhlentleerungsfrequenz

5.3. Mikrobiologie

5.3.1. Intention to Treat Auswertung

In der mikrobiologischen Routinestuhldiagnostik, einschließlich der Untersuchung auf Bakterien, Viren, CDT und Parasiten, zeigte sich nur in 38 (27,7%) von 137 Fällen ein pathologischer Befund.

Die Testung auf pathologische Bakterien fiel dabei in 129 (94,2%) von 137 Fällen negativ aus. Insgesamt konnten durch die routinemäßige Stuhlkultur nur 8-mal pathologische

Bakterien nachgewiesen werden, davon sechsmal Salmonellen, einmal Campylobacter und einmal Yersinien.

Tab. 6 Ergebnisse der Routinestuhl Diagnostik

	Anzahl	Häufigkeit
Mikrobiologie neg.	99	72,3%
pos.	38	27,7%
Total	137	100,0%

Tab. 7 Nachweis pathologischer Bakterien in der mikrobiologischen Routinestuhlkultur

	Anzahl
Bakterien Nicht nachweisbar	129
Shigellen	0
Salmonellen	6
Campylobacter	1
Yersinien	1
Total	137

Die Testung auf Viren fiel in 114 (83,2%) von 137 Fällen negativ aus. Im Gesamten konnten zweimal Adeno-, achtmal Rota- und sechsmal Noroviren nachgewiesen werden. In sieben Fällen handelte es sich um eine virale Mischinfektion dieser drei Viren.

Die Testung auf CDT erbrachte in 131 (95,6%) von 137 Fällen ein negatives Kulturergebnis. Der Nachweis des CDT gelang nur sechsmal.

Aufgrund einer eingehenden Anamnese mit der Möglichkeit einer parasitären Erkrankung erfolgte in einem von 137 Fällen die Anordnung einer parasitologischen Untersuchung auf Entamoeba histolytica und Giardia lamblia. Diese wurde durch den Nachweis von Giardia Lamblia in der untersuchten Stuhlprobe bestätigt.

Tab. 8 Viren-Nachweis durch die mikrobiolog. Routinediagnostik

	Anzahl
Viren Nicht nachweisbar	114
Adenoviren (1)	2
Rotaviren (2)	8
Noroviren (3)	6
Mischinfektion (1-3)	7
Total	137

Tab. 9 CDT-Nachweis durch die mikrobiolog. Routinediagnostik

	Anzahl
CDT nachweisbar	6
Nicht nachweisbar	131
Total	137

5.3.2. Per Protokoll Auswertung

Von den 137 durch die mikrobiologische Routinestuhl Diagnostik untersuchten Patientenproben schieden 42 aufgrund fehlender Durchführbarkeit des LF-Testes aus.

Die Ergebnisse der 95 verbleibenden Patientenproben sind im Folgenden tabellarisch aufgeführt.

Tab. 10 Nachweis pathogener Erreger durch die mikrobiolog. Routinestuhl diagn.

	Anzahl
Bakterien	
nicht nachweisbar	89
Salmonellen	5
Yersinien	1
Total	95
Viren	
nicht nachweisbar	77
Adenoviren	1
Rotaviren	6
Noroviren	6
Mischinf.	5
Total	95
CDT	
nicht nachweisbar	92
nachweisbar	3
Total	95
Parasiten	
nicht nachweisbar	1
Gardia lamblia	1
nicht getestet	93
Total	95

Tab. 11 Ergebnisse der Routinestuhl diagn.

	Anzahl	Häufigkeit
Mikrobiologie neg.	67	70,5%
pos.	28	29,5%
Total	95	100,0%

In der mikrobiologischen Routinestuhl Diagnostik ergab sich mit dem Nachweis pathogener Erreger in 28 (29,47%) von 95 Fällen nur ein minimaler Unterschied zu den Ergebnissen der Per-Protokol-Gruppe.

5.4. Laktoferrin-Titer

Die Bestimmung der Laktoferrintiter erfolgte für jede der 95 Proben jeweils in einer 1:50- und einer 1:200-Verdünnung. Die Ergebnisse wurden jeweils mit den Ergebnissen der mikrobiologischen Stuhlkultur verglichen.

5.4.1. Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:50 mit dem mikrobiologischen Bakteriennachweis

In der folgenden Tabelle wurden die LF-Titerkonzentrationen der 95 auswertbaren Stuhlproben in der 1:50-Verdünnung mit dem Nachweis pathologischer Bakterien, resultierend aus der mikrobiologischen Routinestuhlkultur, dargestellt. In 84 von 95 Fällen war der LF-Titer neg., in 82 von 84 Fällen konnte bei einem negativen Laktoferrintiter auch mit einem negativen Ergebnis der auf Bakterien getesteten Stuhlkultur gerechnet werden. Der negative prädiktive Wert lag somit bei 97,6% und die Wahrscheinlichkeit, dass ein Patient ohne mikrobiologischen Nachweis eines pathogenen Bakteriums Test-negativ war lag bei 92% (Spezifität).

In sechs Fällen konnte durch die Stuhlkultur ein Erregernachweis gelingen, darunter fünf Salmonellen- und eine Yersinieninfektion. Durch den LF-Test wurden vier von sechs bakteriellen Infektionen auch durch den LF-Test als positiv erkannt. Die Sensitivität des LF-Tests lag somit bei 67%.

Tab. 12 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:50-Verdünnung mit dem Bakteriennachweis der mikrobiologischen Routinekultur

		Pathologische Bakterien						
		Salmonellen		Yersinien		Nicht nachweisbar		Total
LF-Titer 1:50	pos.	3	3/11	1	1/11	7	7/11	11
	neg.	2	2,1%	0	,0%	82	97,6%	84
	Total	5	4,5%	1	,9%	89	93,7%	95

Aufgrund geringer Fallzahlen erfolgte in der ersten Zeile der obigen Tabelle die Angabe nicht in Prozent

In 7 Fällen lag trotz negativer Stuhlkultur ein positiver LF-Titer in der 1:50-Verdünnung vor. Hierbei litten nachweislich zwei Patienten unter einer bekannten Colitis ulcerosa, ein Patient unter einem bekannten Morbus Crohn und zwei Patienten unter einer im Verlauf des weiteren stationären Aufenthaltes durch Koloskopie bestätigten neu diagnostizierten CED. Bei einem weiteren Patienten wurde durch eine erweiterte mikrobiologische Kultur ein Befall durch

Giardia lamblia nachgewiesen, während ein anderer Patient jeweils aufgrund eines Magengeschwürs mit einem hochdosierten Protonenpumpeninhibitor behandelt wurde.

In zwei Fällen ergab die Stuhlkultur trotz negativem LF-Test ein positives Ergebnis. Beides Mal lag eine Infektion mit Salmonellen vor.

Bei der ersten Patientin handelte es sich um eine 83-jährige Heimbewohnerin. Ihre Aufnahmetemperatur lag bei 38,0°C, das CRP bei 30,4 mg/dl. Durchfall und Erbrechen ohne Übelkeit bestanden seit drei Tagen. Bauchschmerzen wurden nicht angegeben. Der Stuhl war flüssig, ohne Beimengungen, die Stuhlentleerung erfolgte bis zu 6/d. Anamnestisch wurde die Einnahme von PPIs und das Vorliegen eines extraintestinalen Tumorleidens angegeben. Bei der klinischen Untersuchung zeigte sich ein Druckschmerz im gesamten Unterbauch jedoch kein Peritonismus. Hinsichtlich der Testung auf CDT und Adeno-, Rota- bzw. Noroviren lag ein negatives Ergebnis vor.

Bei dem zweiten Patienten handelte es sich um einen 58-jährigen Baumaschinisten, der mit 39°C Fieber, Übelkeit, Erbrechen und seit vier Tagen bestehender flüssiger Diarrhoe ohne Beimengungen und bis zu 10 Stuhlentleerungen am Tag aufgenommen wurde. Laut Patient bestanden keine Bauchschmerzen oder Gelenkschmerzen. Sowohl ein Auslandsaufenthalt in den letzten 4 Monaten als auch das Vorliegen bekannter Magen-Darm-Erkrankungen wurde verneint. Bei der klinischen Untersuchung waren weder Druckschmerz noch Peritonismus nachweisbar. Das CRP lag bei 67 mg/dl. Die aktuelle Medikation bestand lediglich aus einem PPI.

5.4.2. Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:200 mit dem mikrobiologischen Bakteriennachweis

Im Vergleich zur 1:50-LF-Titerkonzentration bestand hier bei Betrachtung der Spezifität (94%) kein signifikanter Unterschied. Der negative prädiktive Wert lag bei 93,3%. Im Unterschied zur 1:50-Verdünnung wurden hier jedoch von den sechs durch die mikrobiologische Stuhlkultur nachgewiesenen Erregern durch den LF-Test keiner als positiv erkannt (Sensitivität 0%).

In 5 Fällen war der LF-Test positiv, obwohl in der Stuhlkultur kein Nachweis invasiver Bakterien erfolgte. Davon litten zwei Patienten unter einer Colitis ulcerosa, eine Patientin unter einer Infektion mit *Giardia lamblia* während zwei weitere Patienten aufgrund eines GÖR mit PPIs behandelt wurden, ohne dass bisher eine Colitis bekannt war.

Tab. 13 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:200-Verdünnung mit dem Bakteriennachweis der mikrobiologischen Routinekultur

		Pathologische Bakterien						
		Salmonellen		Yersinien		Nicht nachweisbar		Total
LF-Titer 1:200	pos.	0	,0%	0	,0%	5	100%	5
	neg.	5	4,8%	1	1,0%	84	93,3%	90
	Total	5	4,5%	1	0,9%	89	93,7%	95

5.4.3. Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:50 mit dem mikrobiologischen Virennachweis

Wie schon in vorherigen Studien vermutet, lieferte der LF-Test für die Detektion von Viren keine zuverlässigen Ergebnisse. Von 17 durch die Durchführung einer mikrobiologischen Stuhl Diagnostik nachgewiesenen viralen Infektionen wurde, unter den zur Auswertung herangezogenen Stuhlproben, nur eine durch den LF-Test erkannt.

Mit einer Spezifität von 87% und einer Sensitivität von < 10% war er weder dazu geeignet Patienten, die in der Stuhlkultur einen positiven Virennachweis ergaben zu erkennen, noch bestand eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass Patienten mit negativem Virennachweis in der Kultur auch im LF-Test ein negatives Ergebnis aufzeigten. Der negative prädiktive Wert lag hier nur bei 79,7%.

Tab. 14 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:50-Verdünnung mit dem Virusnachweis der mikrobiologischen Routinekultur

		Viren										
		AV		RV		NV		Mischinfektion		Nicht nachweisbar		Total
LF Titer 1:50	pos.	0	,0%	0	,0%	0	,0%	1	9,1%	10	90,9%	11
	neg.	1	1,2%	6	7,1%	6	7,1%	4	4,8%	67	79,8%	84
	Total	1	1,1%	6	6,3%	6	6,3%	5	5,3%	77	81,1%	95

Dabei handelte es sich um eine 39 jährige Tierpflegerin, die mit einer seit 7 Tagen anhaltenden blutigen Diarrhoe ohne Schleim Beimengungen, begleitender Übelkeit mit Erbrechen und Temperaturen bis 38,8°C auf die Infektiologie aufgenommen wurde. Anamnestisch gab die Patientin weder Bauch- noch Gelenkschmerzen an. Medikamente nehme sie nicht ein, Magen-Darm-Erkrankungen seien ihr nicht bekannt. Laborchemisch

lagen ein Leukozytenanstieg auf 11,2 und ein CRP Anstieg auf 309,9 mg/dl vor. Während der klinischen Untersuchung zeigte sich ein diffuser Druckschmerz im Abdomen. Außer der Mischinfektion mit Adeno (AV)-, Rota (RV)- und Noroviren (NV) fiel weder ein pos. CDT-Nachweis, noch ein positiver Bakteriennachweis in der mikrobiologischen Stuhlkultur auf.

5.4.4. Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:200 mit dem mikrobiologischen Virennachweis

In Gegensatz zur 1:50-Titer-Reihe konnte hier durch den LF-Test keiner der 18 in der mikrobiologischen Routinestuhlkultur entdeckten viralen Keime detektiert werden.

Der negative prädiktive Wert bei 93,5%.

Tab. 15 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:200-Verdünnung mit dem Virusnachweis der mikrobiologischen Routinekultur

		Viren										
		AV		RV		NV		Mischinfektion		Nicht nachweisbar		Total
LF Titer	pos.	0	,0%	0	,0%	0	,0%	0	,0%	5	100,0%	5
	1:200											
	neg.	1	1,1%	6	6,7%	6	6,7%	5	5,6%	72	80,0%	90
	Total	1	1,1%	6	6,3%	6	6,3%	5	5,3%	77	81,1%	95

In 5 Fällen konnte ein pos. LF-Titer nachgewiesen werden, obwohl die mikrobiologische Stuhlkultur auf Viren nachweislich neg. ausgefallen war. Hierbei handelte es sich zwei Mal um Patienten mit Colitis ulcerosa, einmal um eine Infektion mit Giardia lamblia, einmal um einen 69-jährigen Patienten, der zusätzlich unter einer Infektion mit CDT litt und einmal um einen 62-jährigen Rentner, der bei Z.n. NSTEMI mit seit sieben Tagen andauernder Diarrhoe ohne Blutbeimengungen, einer Stuhlfrequenz von 3/d, Abdominalschmerzen im Oberbauch, Übelkeit, Erbrechen und einem CRP von 115,6 mg/dl ohne Fieber aufgenommen wurde. Laut Patient bestünden keine bek. Magen-Darm-Erkrankungen.

5.4.5. Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:50 mit dem mikrobiologischen CDT-Nachweis

In einem von drei nachweisbaren Infektionen mit CDT gelang durch den LF-Test ein positiver Nachweis. Die anderen zwei Patienten mit CDT-Nachweis in der mikrobiologischen Routinestuhlkultur wurden nicht durch den LF-Test erkannt (Sensitivität 33%, Spezifität

89%). In diesen Fällen deuteten jedoch vor allem die laborchemischen Ergebnisse auf die Dringlichkeit einer weiteren Diagnostik hin.

Tab. 16 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:50-Verdünnung mit dem CDT-Nachweis der mikrobiologischen Routinekultur

		CDT			
				Total	
LF-Titer	pos.	1	9,1%	10	90,9%
	neg.	2	2,4%	82	97,6%
	Total	3	3,2%	92	96,8%

So litt die erste Patientin, eine 85-jährige Rentnerin seit 3 Tagen unter einer breiigen Diarrhoe ohne Beimengungen und einer Stuhlentleerungsfrequenz von 4/d. Bei Aufnahme bestand eine Temperatur von 38,6°C. Sowohl Bauch- und Gelenkschmerzen als auch Übelkeit und Erbrechen wurden verneint. Bei der klinischen Untersuchung war lediglich ein leichter diffuser Druckschmerz im Abdomen auslösbar. Das CRP war mit 236,2 mg/dl deutlich erhöht und auch die Lc lagen mit 14,6 nl über dem Normwert. Anamnestisch lag keine bek. Magen-Darm-Erkrankung vor. Die Patientin war jedoch bis vor einigen Tagen mit AB behandelt worden und nahm regelmäßig NSAR ein.

Der zweite, 70 Jahre alte Patient war mit seit 4 Tagen bestehender flüssiger Diarrhoe, Temperaturen bis 38,2°C und einer Stuhlentleerungsfrequenz von 6/Tag bei bestehender Übelkeit mit Erbrechen ohne Abdominal-, Druck- oder Gelenkschmerzen, anamnestisch bestehendem extraintestinalen Tumorleiden und einem CRP von 397,8 mg/dl aufgenommen worden. Eine Magen-Darm-Erkrankung sei nicht bekannt.

Insgesamt fand man also bei beiden Patienten eine deutliche CRP-Erhöhung von mind. 202 mg/dl, vergesellschaftet mit einer zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme gemessenen erhöhten Körpertemperatur.

Sobald ein LF-Test negativ ausfiel fand sich in der mikrobiologischen Routinekultur häufig, aber nicht immer, auch ein negatives Ergebnis. Der negative prädiktive Wert lag bei 89%.

Insgesamt 11-mal erwies sich der LF-Titer als positiv obwohl durch die Mikrobiologie kein CDT-Nachweis erfolgt war.

5.4.6. Vergleich der LF-Titerkonzentration 1:200 mit dem mikrobiologischen CDT-Nachweis

Auch in der 1:200-LF-Titer-Reihe zeigte sich ein vergleichbares Resultat. Hier konnte ebenfalls nur in einem von drei Fällen durch den LF-Test ein positiver Toxinnachweis erfolgen (Sensitivität 33%, Spezifität 96%). Der negative prädiktive Wert lag bei 98%.

Tab. 17 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:200-Verdünnung mit dem CDT-Nachweis der mikrobiologischen Routinekultur

		CDT				
		nachweisbar		nicht nachweisbar		Total
LF-Titer 1:200	pos.	1	20,0%	4	80,0%	5
	neg.	2	2,2%	88	97,8%	90
	Total	3	3,2%	92	96,8%	95

5.5. Klinik

Bei Aufnahme in die Klinik wiesen die Patienten jeweils unterschiedliche Symptome auf. Sowohl Stuhlbeimengungen wie Blut oder Schleim als auch Abdominalschmerzen, Druckschmerzen, Peritonismus, Übelkeit, Erbrechen, Fieber oder Gelenkschmerzen kamen vor.

Beim Vergleich der klinischen Symptome in Verbindung mit dem vorherrschenden Erregerspektrum konnte kein sicherer Zusammenhang aufgezeigt werden.

Auffallend war, dass v. a. Virusinfektionen ein sehr breit gefächertes Symptomenspektrum aufwiesen und am häufigsten mit Übelkeit, schwallartigem Erbrechen und kolikartigen Abdominalschmerzen einhergingen.

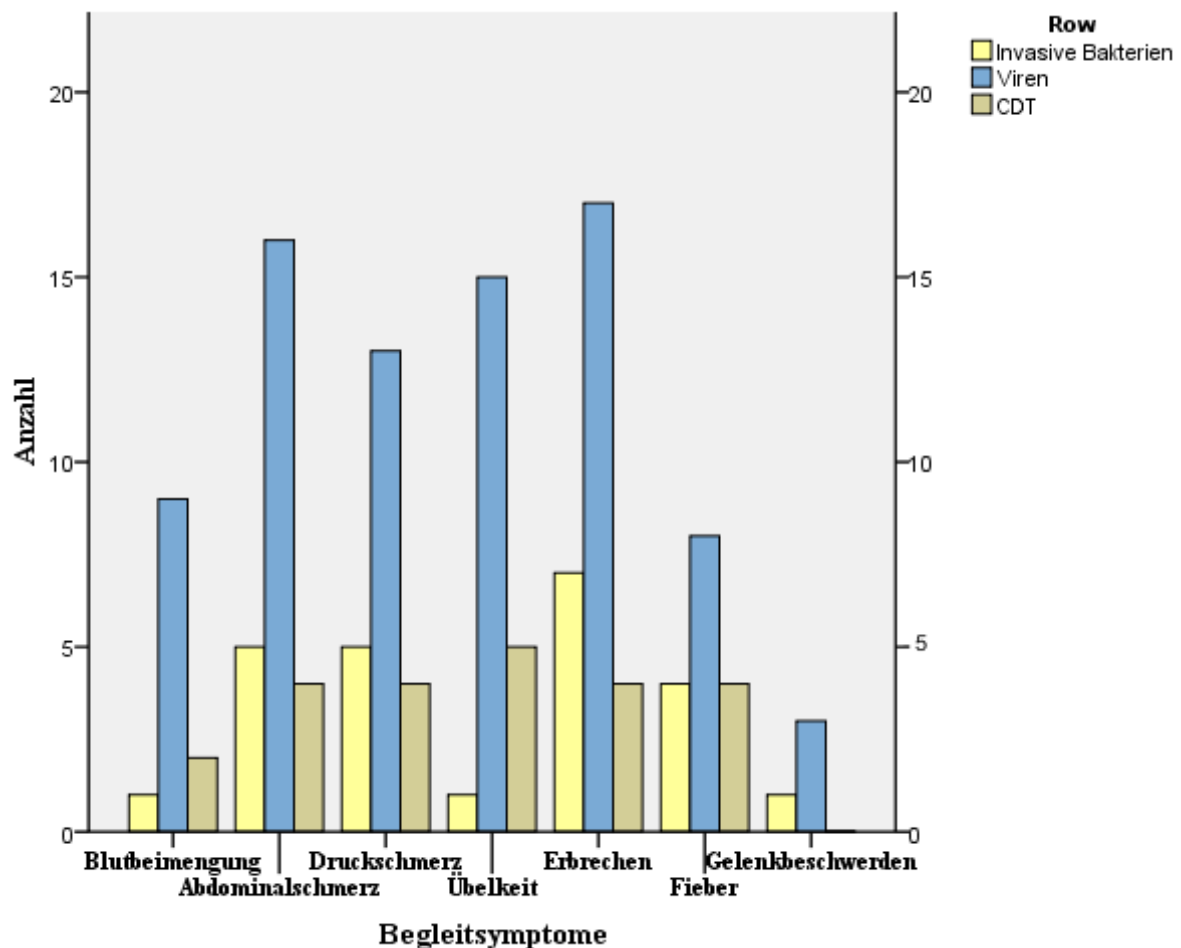


Abb. 9 Darstellung von Begleitsymptomen in Bezug auf die in der mikrobiologischen Routinestuhlkultur detektierten Erreger

Hinsichtlich der klinischen Laborparameter ergab sich, dass Patienten mit einem CRP < 2 mg/dl sowohl in der 1:50- als auch in der 1:200-Verdünnung weder positive LF-Titer, noch eine positive Mikrobiologie auf invasive Bakterien aufwiesen. Bei allen CRP Werten >2 mg/dl musste auch mit einem positiven LF-Titer in der 1:50-Verdünnung bzw. einem positiven Ergebnis der mikrobiologischen Routinekultur gerechnet werden.

Tab. 18 Zusammenhang zwischen CRP-Höhe und pos. Mikrobiologie bzw. pos. LF-Titer

		CRP [mg/dl]					
		< 2,0	2,0 - 51,9	52,0 - 101,9	102,0 - 151,9	152,0 - 201,9	202,0+
Bakterien	pos.	0	1	1	2	2	2
LF-Titer 1:50	pos.	0	3	1	2	3	2
LF-Titer 1:200	pos.	0	3	1	1	0	0

5.6. Kostenanalyse

Für die Testung der 95 Proben im Rahmen der mikrobiologischen Routinestuhldiagnostik wurden insgesamt 95 x 195,- Euro, d. h. 18525,- Euro ausgegeben. Zusätzlich kamen 2 x 25,49 Euro, dies entspricht 50,98 Euro, für eine zweimalige Testung auf Parasiten hinzu. Insgesamt beliefen sich die Kosten somit auf 18576,- Euro.

Die Materialkosten für den Leuko-Test® beliefen sich auf 2 x 176,- Euro - insgesamt also auf 352,- Euro für 2 Sets à 50 Schnelltests. Nach Einberechnung weiterer Kosten entsprechend der Arbeitszeit der MTAs entstanden zusätzliche Kosten von 95 x 6,- Euro. Die Durchführung der 95 Leuko-Tests® belief sich somit insgesamt auf 922,- Euro.

Berücksichtigt werden muss auch die Tatsache, dass die 164 Patienten, von denen die Proben stammten, mit der Verdachtsdiagnose der akuten infektiösen Diarrhoe aufgenommen wurden und somit strengen Isolationsmaßnahmen unterlagen. Da es nicht immer möglich war, die betroffenen Patienten zu kohortieren, kam es im Verlauf zu Kostenausfällen, vorwiegend durch den Ausfall von Betten, von mehreren hunderttausend Euro.

6. Diskussion

6.1. Diskussion des Studienablaufes

Die Probensammlung wurde über einen Zeitraum von zwei Jahren durchgeführt. Es konnte davon ausgegangen werden, dass keine Selektionsbias vorlag, da sowohl die laut Statistik in den Wintermonaten gehäuft vorkommenden viralen Diarrhoen als auch die im Sommer häufigeren bakteriellen Diarrhoen gleichmäßig im Patientenkollektiv vertreten waren. Aufgrund der Durchführung der Studie unter klinischen Routinebedingungen sind die Ergebnisse im Gegensatz zu Studien, die studienbedingte Idealbedingungen aufweisen, besonders aussagekräftig.

Durch die 184 gewonnenen Stuhlproben von insgesamt 165 Patienten konnte, nach Berücksichtigung der Ein- bzw. Ausschlusskriterien, mit den 137 zur Auswertung herangezogenen Stuhlproben eine ausreichend große Stichprobe untersucht werden. Kritisch anzumerken ist, dass im Untersuchungszeitraum in der Medizinischen Mikrobiologie Proben von 548 Patienten untersucht wurden. Somit wurden unter den Routinebedingungen nur von 1/3 der Patienten überhaupt Proben für die Laktoferrinuntersuchung generiert. Hier ist vor allem die niedrige Bereitschaft des Personals zur Durchführung wissenschaftlicher Untersuchungen zu nennen. Als Grund hierfür wird u. a. Arbeitsüberlastung angegeben. Dies ist sicher eine Schwäche der Untersuchung, führt aber nicht zu einem systematischen Fehler.

Hinsichtlich der Diarrhoedauer und der Anzahl der Stuhlentleerungen gab es – hier jedoch selbst konstruiert – Einschränkungen der Durchführbarkeit. Diese wurden durch die sog. Ein- bzw. Ausschlusskriterien definiert und beinhalteten den Ausschluss eines/einer Patienten/in aus der Studie, sofern die Einhaltung dieser Kriterien nicht gewährleistet war. Unter die Ausschlusskriterien fiel dabei eine Diarrhoedauer > 14 Tage, eine Stuhlentleerungsfrequenz $< 3/d$ und ein Patientenalter < 16 Jahre.

Diese Kriterien wurden aufgrund vieler vorangegangener Studien zu diesem und ähnlichen Themen formuliert und sollten das Patientenkollektiv auf gewünschte Maßen normen. Natürlich kommt es bei einer solchen „Normung“ immer auch dazu, dass bestimmte Patienten von vornherein nicht berücksichtigt werden. Dies ist aber in Anbetracht dessen, dass andere Studienentwürfe einem ähnlichen Prinzip unterliegen vernachlässigbar.

So mussten im Verlauf aufgrund nachhaltig erworbener Kenntnisse über die Dauer der Diarrhoe und die Frequenz der Stuhlentleerungen und unter Berücksichtigung der Ein- bzw. Ausschlusskriterien der Studie einige Patienten aus der Studie ausgeschlossen werden. In

Tabelle 19 und 20 zeigt sich, dass von insgesamt 184 Stuhlproben 34 von Patienten/innen stammten, die an einer chronischen Diarrhoe litten und 14 von Patienten/innen, deren Stuhlfrequenz die festgelegte Grenze von 3/d unterschritt. Bei einer Patientin lagen beide dieser Ausschlusskriterien gleichzeitig vor.

Tab. 19 Unterscheidung zwischen akuter und chronischer Diarrhoe anhand der Diarrhoedauer

	Häufigkeit	Prozent
Diarrhoedauer ≤ 14	150	81,5
[Tagen] 15+	34	18,5
Total	184	100,0

Tab. 20 Unterscheidung von akuter und chron. Diarrhoe anhand der Stuhlentleerungs - Frequenz

	Häufigkeit	Prozent
SFR/d < 3	14	7,6
3+	170	92,4
Total	184	100,0

Dadurch mussten im Endeffekt 47 von 184 Proben aufgrund der Verfehlung der Einschlusskriterien von der Auswertung ausgeschlossen werden.

Dies kann u. a. dadurch erklärt werden, dass die Proben täglich und somit auch an Wochenenden, an denen häufig die Ärzte oder das Pflegepersonal wechselten, gesammelt wurden. So kam zwar eine große Anzahl an Proben zustande, jedoch konnten viele aufgrund der Verfehlung von Ein- bzw. Ausschlusskriterien nicht mit in die Studie aufgenommen werden.

6.2. Diskussion der Durchführbarkeit

Im Gegensatz zur fäkalen Mikroskopie ist der LF-Schnelltest billig, leicht und vor allem Untersucher-unabhängig, d. h. ohne teures hoch qualifiziertes Personal und aufwendige Materialien (Scerpella et al. 1994, Ashraf et al. 2007, Guerrant et al. 1985, Khan et al. 2006) durchführbar. Bis zur Bestimmung von Laktoferrin kann der Stuhl bis zu 48 Stunden gekühlt oder längerfristig eingefroren werden, ohne dass sich diese Handhabung auf das Ergebnis des LF-Testes auswirkt. Dies ist äußerst praxisnah, da bei vielen Patienten, die nachts oder am Wochenende aufgenommen werden, eine zeitliche Verzögerung der Bearbeitung der Stuhlproben durchaus normal ist.

Trotz vieler Vorteile gab es Ergebnissen dieser Studie zufolge hinsichtlich der Durchführung des LF-Schnelltestes einen entscheidenden Nachteil. So war bei Patienten, die mit Verdacht auf eine akute infektiöse Diarrhoe in die Klinik aufgenommen worden waren und einen

breiigeren Stuhl aufwiesen, in etwa $\frac{1}{4}$ der Fälle die Durchführbarkeit des LF-Testes nicht gewährleistet.

Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Stuhlkonsistenz „breiig“ und der Durchführbarkeit des LF-Testes evaluiert werden, weshalb es wichtig wäre, in dieser Hinsicht für die Zukunft Verfahren zu entwickeln, die es einerseits erlauben würden, die Stuhlproben zu verdünnen, um somit die Durchführbarkeit des LF-Testes zu gewährleisten und andererseits garantieren könnten, dass es dabei nicht zu einer Verfälschung der Ergebnisse kommt.

Dies ist besonders wichtig, da bei 7 der 33 Stuhlproben, bei denen aufgrund ihrer breiigen Konsistenz der LF-Test nicht durchgeführt werden konnte, in der Routinestuhldiagnostik pathogene Erreger nachgewiesen werden konnten.

6.3. Diskussion der Mikrobiologie und Mikroskopie

Diese Studie verdeutlicht, dass die mikrobiologische Routinestuhldiagnostik, wie schon in mehreren US-amerikanischen (Koplan et al. 1980, Morris et al. 1996, Valenstein et al. 1996, Yannelli et al. 1988) und europäischen Studien (Barbut et al. 1995, Ozerek und Rao 1999, Rabasa et al. 1993, Rohner et al. 1997, Bauer et al. 2001) beschrieben, durch ihre geringe Effektivität bzgl. eines Erregernachweises charakterisiert ist.

So fielen in einer Studie (Koplan et al. 1980) nur gerade 2,4% der untersuchten Stuhlkulturen von insgesamt 2468 Personen mit Diarrhoe positiv aus. Neuere Daten des “Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet)” bestätigen die Feststellungen von Koplan, indem von 233212 Stuhlproben nur gerade 0,49% für Salmonellen und 0,6% für Shigellen positiv waren (Guerrant et al. 2001). Auch für *Campylobacter jejuni* resultieren keine besseren Werte. Hingegen erreichen Untersuchungen, die an gezielten Gruppen wie Reisenden oder Patienten mit akuter Diarrhoe innerhalb von 48 Stunden nach Beginn der Erkrankung durchgeführt wurden, eine deutlich bessere Ausbeute (Gyr et al. 2005).

Unter den 137 nach der Intention-to-treat-Methode ausgewerteten Patientenproben fanden sich nur 8 Stuhlproben, die nach Durchführung einer Stuhlkultur auf pathologische Bakterien ein positives Ergebnis zeigten. Dies entspricht, mit der niedrigen Ausbeute von lediglich 5,8%, in etwa der bisherigen Studienlage.

Auch bei Betrachtung der sogenannten Per-Protokoll-Auswertung fanden sich unter 95 Patientenproben nur 6 (6,3%) Stuhlproben, die in der mikrobiologischen Stuhlkultur ein

positives Ergebnis aufwiesen.

Der Virusnachweis durch die mikrobiologische Routinestuhl Diagnostik gelang in 23 (16,78%) von 137 Fällen, der CDT-NW in 6 (4,37%) von 137 Fällen. Die hohen Zahlen für die Virusinfektionen könnten, nach Rücksprache mit dem RKI und neuesten epidemiologischen Zahlen für das Land Thüringen (Epidemiologisches Bulletin, 2009) auf eine Häufung viraler Durchfallerkrankungen im Jahr 2008/09 zurückgehen, da die Probensammlung u. a. während diesem Zeitraum erfolgte. Demzufolge traten 2008 insgesamt 11541 bzw. 5708 und 2009 1114 bzw. 3706 Fälle von Noro- bzw. Rotavirusinfektionen auf, währenddessen im Vergleich 2001 nur 104 Norovirusinfektionen auftraten. Diese Konstellation könnte auch das von früheren Untersuchungen im Zeitraum vor 2001 abweichende Gesamtergebnis von in dieser Studie insgesamt 26% nachgewiesener darmpathogener Erreger durch die mikrobiologische Routinestuhlkultur erklärt werden (Guerrant et. al. 1985, Choi et. al. 1996). Bei Betrachtung der Ergebnisse der Per-Protokoll-Analyse gelang der Virusnachweis durch die mikrobiologische Routinediagnostik in 18 (18,94%) von 95 Fällen, der CDT-NW in 3 (3,15%) von 95 Fällen, womit sich kein relevanter Unterschied zur Intention-to-treat-Gruppe zeigen lies. Diese Häufung viraler Diarrhoen hat - besonders seit der großen Norovirusepidemie im Herbst/Winter 2002/2003 – die Diskussion um verbesserte und vor allem zeitsparendere Diagnostik intensiviert (Bauer et al. 2001, Koplan et al. 1980). Nach wie vor ist die mikrobiologische Diagnostik weiterhin der Goldstandard in der Diagnostik der akuten infektiösen Diarrhoe und kann durch die Laktoferrinbestimmung nicht ersetzt werden.

Es konnte in einigen bisherigen Studien gezeigt werden, dass Laktoferrin bezüglich der Detektion einer inflammatorischen Diarrhoe durch invasive Bakterien in der 1:50- im Gegensatz zur 1:200-Verdünnung des LF-Testes eine höhere Sensitivität erreicht als die Stuhlmikroskopie (Scerpella et al. 1994). Die Unterschiede in der Sensitivität zwischen der 1:50- und 1:200-Verdünnung konnten in dieser Studie jedoch nicht bzw. nur annähernd anhand einer Sensitivität von 67% (1:50-Verdünnung) bestätigt werden. Dies könnte jedoch auch eine Folge der kleinen Stichprobe pathogener Bakterien gewesen sein.

6.4. Diskussion des Laktoferrintiters

In der vorgelegten Studie erwies sich der LF-Test in der 1:50-Titerreihe als hervorragendes Instrument, um bei einem negativen Testergebnis mit knapp 98%iger Wahrscheinlichkeit eine positive Stuhlkultur für darmpathogene Bakterien auszuschließen. Die Stärke des Testes lag somit eindeutig in der Höhe des negativen prädiktiven Wertes.

Im Falle eines negativen LF-Testes hätte somit auf den bakteriellen Erregernachweis durch die mikrobiologische Routinestuhlkultur verzichtet werden können.

Im Falle eines positiven Ergebnisses des LF-Tests und somit eines positiven LF-Nachweises im Stuhl bedeutete dies, dass bei negativem Ergebnis der mikrobiologischen Routinestuhlkultur auf invasive Bakterien, negativem Virusnachweis und fehlendem CDT-Nachweis unbedingt nach anderen Durchfallerregern wie Parasiten oder einer entzündlichen Darmerkrankung gesucht werden sollte.

Im Verlauf dieser Studie wurden durch dieses Prinzip bei zwei Patienten, bei denen bisher keine Magen-Darm-Erkrankung bekannt war im Verlauf eine erweiterte Diagnostik angeordnet. Darunter ergab sich einmal eine Lambliasis und einmal kam es zur Erstdiagnose einer CED durch eine angeschlossene Koloskopie. In beiden Fällen war somit das positive Ergebnis des LF-Schnelltestes ein eindeutiger Hinweis für die Dringlichkeit einer weiterführenden Diagnostik.

Auch vier Patienten, bei denen im Nachhinein anamnestisch eine CED bekannt wurde, konnten allesamt durch den Test als positiv erkannt werden. Dies bestätigte, wie schon andere Studien zuvor (Sugi et al. 1996), dass LF im Fall von aktiver Colitis ulcerosa und Morbus Crohn meist schon in der 1:50-Titer-Reihe signifikant erhöht ist.

Diese hohe Sensitivität des fäkalem LF als Marker für entzündliche Darmerkrankungen wurde schon zuvor in mehreren Studien diskutiert (Fine KD et al. 1998, Kane et al. 2003, Guerrant et al. 1992).

6.5. Diskussion der Klinik

Insgesamt zeigten sich in dieser Studie unter Berücksichtigung aller Erregerspezies der mikrobiologischen Routinestuhlkultur bei positivem LF-Test für beide Titerverdünnungen am häufigsten die drei Kardinalsymptome Diarrhoe mit Blutbeimengungen zum Stuhl, Abdominalschmerzen und Erbrechen.

Vor allem bei viralen Infektionen zeigte sich häufig ein spontanes, explosionsartiges Erbrechen, das auch eines ($> 50\%$ d. F.) der Kaplan-Kriterien zur Diagnose von Norovirusinfektionen darstellt. Kommen zusätzlich eine wässrige akute Diarrhoe, eine Erkrankungsdauer von 12-60 Stunden und eine IKZ von 6-48 Stunden als Kriterium hinzu und sind zusätzlich Personal und Betreute betroffen, muss zunächst von einer Norovirusinfektion ausgegangen werden (Schneider et al. 2007) und die entsprechenden hygienischen Maßnahmen eingeleitet werden. Auf keinen Fall sollte auch hier bis auf das Eintreffen der labortechnischen Bestätigung der klinischen Diagnose gewartet werden.

Im Gegensatz dazu zeigte sich bei Infektionen durch pathologische Bakterien häufiger eine Aufnahmetemperatur von $> 38,5^{\circ}\text{C}$ oder Fieber in der Patientenanamnese, jedoch auch hier vergesellschaftet mit Abdominalschmerzen und Erbrechen.

Beim Nachweis von CDT in der mikrobiologischen Routinestuhldiagnostik handelte es sich in der vorliegenden Untersuchung in allen Fällen um Patienten mit einem CRP > 200 mg/dl und einer erhöhten Aufnahmetemperatur ($> 37,5^{\circ}\text{C}$). Somit kann abgeleitet werden, dass bei Patienten, die diese und zusätzliche Kriterien wie Blutbeimengungen zum Stuhl, kolikartige Bauchschmerzen und anamnestische Hinweise auf eine vorangegangene Behandlung mit Antibiotika oder einen kürzlich erfolgten Klinikaufenthalt aufweisen, eine CDT-Erkrankung auszuschliessen ist. Auch muss kritisch betont werden, dass trotz der hohen Patientenzahl insgesamt der CDT-Nachweis für valide Aussagen zu selten gelang bzw. zu wenig Patienten eingeschlossen wurden.

6.6. Diskussion des Algorithmus

Die im Ergebnisteil dargestellten Erkenntnisse konnten im Rahmen der abschließenden Betrachtung zu einem Algorithmus zusammengefasst werden, der im Falle der Aufnahme eines Patienten mit Verdacht auf akute infektiöse Diarrhoe Anwendung finden könnte.

Bei der Formulierung der Verdachtsdiagnose werden zunächst die klinischen Symptome der Patienten berücksichtigt. Bestehen klinische Hinweise auf Diarrhoe, Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen oder Blutbeimengungen zum Stuhl muss von einer akuten infektiösen Diarrhoe ausgegangen werden. Nach der Aufnahme des Patienten erfolgen unverzüglich die nach hausinternen und an Richtlinien des RKI orientierten Isolierungsmaßnahmen des Patienten und die Stuhlprobenentnahme. Im Anschluss wird die Testung auf Laktoferrin im Stuhl durchgeführt.

Ergibt sich hier ein positiver Wert, so erfolgt die komplette Routinestuhldiagnostik auf Bakterien, Viren und CDT, wohingegen bei negativem Laktoferrintiter nur eine Stuhldiagnostik auf Viren und CDT durchgeführt werden muss.

Bei Patienten, bei denen Laktoferrin positiv, die Routinestuhldiagnostik jedoch negativ ausfällt, sollte eine weiterführende Diagnostik eingeleitet werden. Diese kann sowohl die erweiterte Stuhlkultur im Sinne einer zusätzlichen Untersuchung auf Parasiten oder auch die Suche nach dem Vorliegen einer CED beinhalten (Koloskopie).

Bei Patienten, bei denen sowohl der Laktoferrintest als auch die Stuhldiagnostik auf Viren und CDT negativ ausfällt, kann eine Entisolierung durchgeführt werden.

Grundsätzlich ist es im Stationsalltag von Kliniken von großem Nutzen, wenn sich das Personal an klar strukturierten Prozessabläufen orientieren kann, um Unklarheiten von vornherein zu umgehen und schnell und adäquat zu handeln. Ein Algorithmus stellt somit, für den Fall der Aufnahme eines Patienten mit Verdacht auf akute infektiöse Diarrhoe, einen Gewinn dar, der das korrekte Management einer akuten infektiösen Durchfallerkrankung fördert.

Im Zusammenhang mit der Durchführung des Laktoferrintests ist hier zu erwähnen, dass weiterhin grundsätzlich jeder Patient, der mit der Diagnose einer akuten infektiösen Diarrhoe aufgenommen wird, dringend isoliert werden muss, um eine mögliche Verbreitung der Erkrankung zu vermeiden. Dieser Aspekt der Isolation wurde in vielen bisherigen Studien zum Thema der Nützlichkeit des Laktoferrintestes nicht bzw. nur am Rande berücksichtigt und wurde in dieser Studie aufgrund seiner entscheidenden Rolle diskutiert.

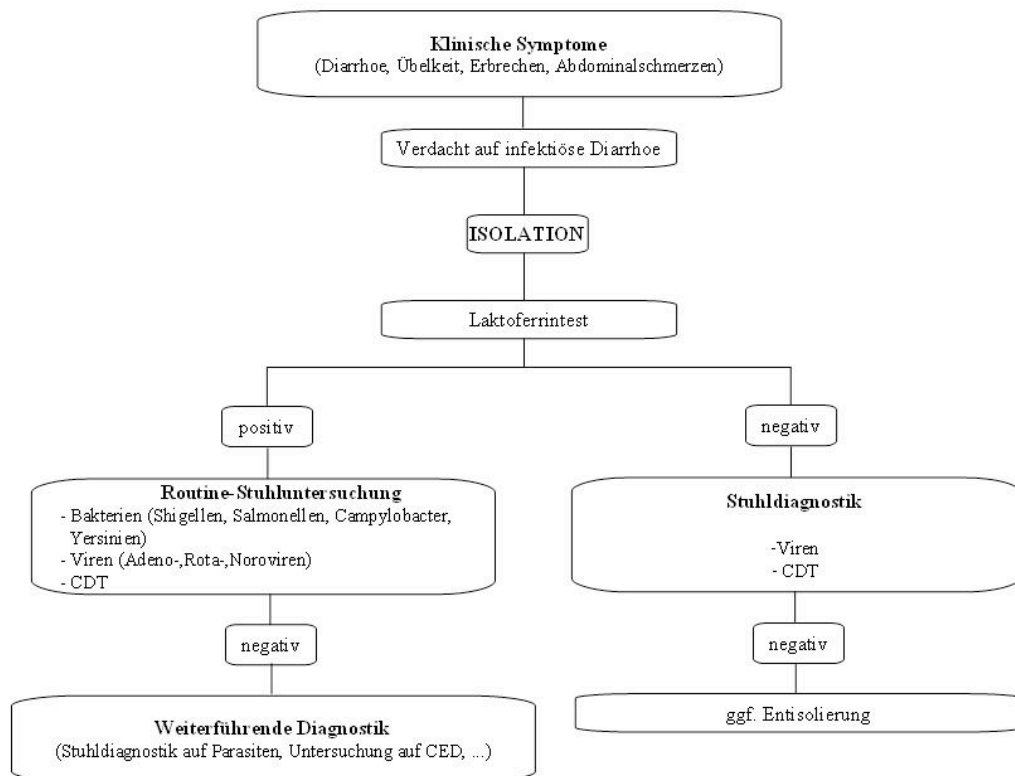


Abb. 10 Algorithmus bei Patienten mit infektiöser Diarrhoe

6.7. Diskussion der Wirtschaftlichkeit des Testes

Stuhlkulturen auf „alle“ infrage kommenden Bakterien sind teuer. Besonders die Zahl der speziellen Kulturmedien, der hohe Arbeits- und Zeitaufwand sowie die niedrige Sensitivität machen sie zu einem der aufwendigsten diagnostischen Labortests überhaupt (Hennessy et al, 2004). Eine Kostenreduzierung wäre möglich, wenn man bei Patienten, die mit Verdacht auf eine akute infektiöse Diarrhoe in die Klinik eingeliefert werden, zunächst einen Schnelltest durchführen kann, anstatt gleich eine Routinestuhluntersuchung anzuordnen. Wichtig ist in diesem Zusammenhang, dass die Mehrzahl der Diarrhoen durch Viren verursacht wird. Ein Schnelltest müsste somit zuverlässig und ausreichend sensitiv virale und bakterielle Diarrhoe sowie Erkrankungen an CDT erfassen. Leider erfüllt die semiquantitative Laktoferrinbestimmung im Stuhl diese Forderungen nur partiell. So schließt ein negativer LF-Test mit hoher Sicherheit eine durch Bakterien bedingte infektiöse Diarrhoe aus

Wenn der LF-Test negativ ausfällt, könnte man auf eine Stuhlkultur zum Nachweis pathogener Bakterien verzichten, da es dann laut dieser Studie sehr unwahrscheinlich ist, dass durch die mikrobiologische Routinekultur ein Nachweis pathogener Bakterien erfolgt (NPV 98% bei einer 1:50-Titerverdünnung). Somit könnten bei konsequenter Anwendung pro Patient 137,69 Euro eingespart werden. Dies hätte sich bei Betrachtung unseres Patientenkollektives (n=95) auf insgesamt 13081 Euro belaufen.

Betrachtet man die aus mikrobiologischen Stuhlprobenuntersuchungen hervorgehenden Zahlen der Zeit zwischen 01.01.2006 – 28.02.2007, dann stellt man fest, dass von 2870 Stuhlproben, die auf den auch in dieser Studie angegebenen Stationen der Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie des Universitätsklinikums der FSU Jena gesammelt wurden, im Endeffekt nur 131 Erregernachweise durch die mikrobiologische Routinestuhlkultur gelingen konnten. Dies entspricht lediglich 4,5% positiver Erregernachweise. Von den insgesamt 2870 Stuhlproben wurden 1105 Stuhlproben auf pathogene Erreger (Salmonellen, Campylobacter, Yersinien und Shigellen) untersucht, wovon sich nur 19 Proben (1,7%) in der mikrobiologischen Stuhlkultur als positiv erwiesen. Dieser Wert stimmt auch mit der allgemeinen Studienlage überein. Wäre der LF-Test in diesen 1105 Fällen durchgeführt worden, hätte er mit einer Wahrscheinlichkeit von 98% die 1086 negativen mikrobiologischen Routinestuhlkulturen erkannt. Somit hätten ca. 150000 Euro gespart werden können, wobei dieser Wert nur die reinen Materialkosten darstellt. Alle weiteren zusätzlichen finanziellen Mittel, die zur Bearbeitung der Stuhlproben durch MTAs, zur Probenlagerung, zum

Probentransport, zur Bereitstellung der Räumlichkeiten, zur Entsorgung der Materialien und vielem mehr aufgewendet werden müssen wurden dabei noch nicht berücksichtigt.

Da der negative prädiktive Wert jedoch nur hinsichtlich des Nachweises invasiver Bakterien brauchbar erscheint, im Hinblick auf eine Infektion durch nicht-invasive Erreger wie Adeno-, Rota- und Noroviren jedoch keine ausreichende Aussagekraft aufweist, wäre es auf alle Fälle, gerade hinsichtlich der entscheidenden und vordringlichen Frage nach einer Isolation des Patienten und der namentlichen Meldepflichtigkeit der Durchfallerkrankung wichtig, hier einen mikrobiologischen Nachweis anzuschließen. Ähnlich verhält es sich mit dem CDT-Nachweis. Dieser muss bei begründetem Verdacht ebenfalls angeschlossen werden.

Die Tatsache, dass in den vergangenen Jahren durch die mikrobiologische Routinestuhl Diagnostik in über 70% der auf den Stationen 461 und 500 gesammelten und untersuchten Stuhlproben Viren nachgewiesen wurden verdeutlicht, dass der Großteil an infektiösen Diarrhoen durch Viren hervorgerufen wird und die Durchführung eines LF-Testes im Vorfeld somit eine untergeordnete Rolle spielt, da dieser eine Infektion durch Viren nicht sicher erkennt.

Gerade in Anbetracht der Isolationspflichtigkeit von Patienten, die mit Verdacht auf akute infektiöse Diarrhoe auf Station aufgenommen werden, würde eine Einführung des Laktoferrintestes in die Praxis keine Kostenersparnis mit sich bringen, da alle Patienten, die diese Verdachtsdiagnose aufweisen, auch weiterhin – und dies unabhängig von einem positiven oder negativen LF-Titer - nach den geltenden Isolationsmaßnahmen behandelt werden müssten, da der LF-Test eine Infektion durch Viren bzw. Clostridien difficile-Toxin produzierenden Erregern nur unzureichend erkennt.

Schlussendlich ist sicher, dass eine Einführung des Laktoferrin-Testes in die Routine hinsichtlich der Möglichkeit einer Kostenersparnis lediglich einen Teilerfolg darstellen würde.

7. Schlussfolgerungen

Vorraussetzung einer gelungenen Durchführung des LF-Schnelltestes ist die flüssige Konsistenz der zu untersuchenden Stuhlprobe. Da von den beiden untersuchten Titer-Reihen für die 1:50-Verdünnung bessere Ergebnisse erzielt werden konnten, ließe sich diese im Gegensatz zur 1:200-Verdünnung sinnvoller in der klinischen Routine etablieren.

Ein negatives Ergebnis in der 1:50-Verdünnung des LF-Schnelltestes bedeutete mit hoher Wahrscheinlichkeit (NPV 98%) auch ein negatives Ergebnis der mikrobiologischen Routinestuhlkultur auf pathogene Bakterien. In diesem Fall könnte zunächst auf die Routinestuhlkultur der typischen bakteriellen Diarrhoeerreger verzichtet werden und auf diese Weise eine beträchtliche Kosteneinsparung durch unnötige Stuhlkulturen erzielt werden.

Ein positives Ergebnis in der 1:50-Verdünnung des LF-Schnelltestes bei anhaltender oder immer wiederkehrender Diarrhoe und hoher Stuhlentleerungsfrequenz sollte unbedingt – auch bei negativer Stuhlkultur auf invasive Keime, negativem Virennachweis und negativem CDT-Nachweis - weitere diagnostische Schritte, z.B. i.S. einer zusätzlichen parasitologischen Stuhluntersuchung oder einer Koloskopie nach sich ziehen, um mit Sicherheit eine parasitäre Besiedlung des Gastrointestinaltraktes oder eine chronisch entzündliche Darmerkrankung wie eine Colitis ulcerosa oder einen Morbus Crohn auszuschließen.

Im Hinblick auf eine Infektion mit CD ist durch den LF-Schnelltest jedoch keine sichere Aussage über das Vorhandensein des CDT zu machen. Deshalb sollte bei entsprechender Klinik (Temperaturen $> 37,5^{\circ}\text{C}$ und erhöhtem CRP) und richtungsweisenden anamnestischen Angaben (vorangegangene AB-Therapie oder stationäre Behandlung) auf alle Fälle zusätzlich eine Stuhlkultur auf CDT angeschlossen werden.

Da der Test nicht-invasive Erreger wie Adeno-, Rota- und Noroviren nicht sicher erkennt wäre hier weiterhin – und dies nicht nur im Sinne der Dringlichkeit einer Entscheidung über die Isolierung des aufgenommenen Patienten, sondern auch über die Pflicht der namentlichen Meldung einer Infektion nach dem IfSG – ein Erregernachweis via RT-PCR indiziert.

Grundsätzlich gilt weiterhin für alle Patienten, die mit V. a. infektiöse Diarrhoe in die Klinik aufgenommen werden die Einhaltung der vorgeschriebenen Isolationsmaßnahmen.

Literatur- und Quellenverzeichnis

- Allen S.J. et al. 2007. Probiotics for treating infectious diarrhoea. The Cochrane Database of Systematic Reviews , Issue 3; Stand Juni 2003
- Alvarado T. 1983. Faecal leucocytes in patients with infectious diarrhoea. Trans R Soc Trop Med Hyg, 77 (3):316-320.
- Ashley DV, Walters C, Dockery-Brown C, McNab A, Ashley DE. 2004. Interventions to prevent and control food-borne diseases associated with a reduction in traveler's diarrhea in tourists to Jamaica. J Travel Med, 11 (6):364-367.
- Ashraf H, Beltinger J, Alam NH, Bardhan PK, Faruque AS, Akter J, Salam MA, Gyr N. 2007. Evaluation of faecal occult blood test and lactoferrin latex agglutination test in screening hospitalized patients for diagnosing inflammatory and non-inflammatory diarrhoea in Dhaka, Bangladesh. Digestion, 76 (3-4):256-261.
- Barbut F, Leluan P, Antoniotti G, Collignon A, Sedallian A, Petit JC. 1995. Value of routine stool cultures in hospitalized patients with diarrhea. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 14 (4):346-349.
- Bauer TM, Lalvani A, Fehrenbach J, Steffen I, Aponte JJ, Segovia R, Vila J, Philippczik G, Steinbruckner B, Frei R, Bowler I, Kist M. 2001. Derivation and validation of guidelines for stool cultures for enteropathogenic bacteria other than Clostridium difficile in hospitalized adults. JAMA, 285 (3):313-319.
- Bennish ML, Salam MA, Haider R, Barza M. 1990. Therapy for shigellosis. II. Randomized, double-blind comparison of ciprofloxacin and ampicillin. J Infect Dis, 162 (3):711-716.
- Bennish ML, Salam MA, Khan WA, Khan AM. 1992. Treatment of shigellosis: III. Comparison of one- or two-dose ciprofloxacin with standard 5-day therapy. A randomized, blinded trial. Ann Intern Med, 117 (9):727-734.
- Bhattacharya SK, Bhattacharya MK, Dutta P, Sen D, Rasaily R, Moitra A, Pal SC. 1991. Randomized clinical trial of norfloxacin for shigellosis. Am J Trop Med Hyg, 45 (6):683-687.
- Bischoff SC, Manns MP. 2001. [Food allergies]. Internist (Berl), 42 (8):1108-1117.
- Choi SW, Park CH, Silva TM, Zaenker EI, Guerrant RL. 1996. To culture or not to culture: fecal lactoferrin screening for inflammatory bacterial diarrhea. J Clin Microbiol, 34 (4):928-932.
- Cimolai N, Morrison BJ, Carter JE. 1992. Risk factors for the central nervous system manifestations of gastroenteritis-associated hemolytic-uremic syndrome. Pediatrics, 90 (4):616-621.

- Cimolai N, Carter JE, Morrison BJ, Anderson JD. 1990. Risk factors for the progression of *Escherichia coli* O157:H7 enteritis to hemolytic-uremic syndrome. *J Pediatr*, 116 (4):589-592.
- Dennehy PH. 2007. Rotavirus vaccines--an update. *Vaccine*, 25 (16):3137-3141.
- DuPont HL. 1997. Guidelines on acute infectious diarrhea in adults. The Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol*, 92 (11):1962-1975.
- Fan K, Morris AJ, Reller LB. 1993. Application of rejection criteria for stool cultures for bacterial enteric pathogens. *J Clin Microbiol*, 31 (8):2233-2235.
- Goodman L, Segreti J. 1999. Infectious diarrhea. *Dis Mon*, 45 (7):268-299.
- Greenberg DE, Jiang ZD, Steffen R, Verenker MP, DuPont HL. 2002. Markers of inflammation in bacterial diarrhea among travelers, with a focus on enteroaggregative *Escherichia coli* pathogenicity. *J Infect Dis*, 185 (7):944-949.
- Guerrant RL, Bobak DA. 1991. Bacterial and protozoal gastroenteritis. *N Engl J Med*, 325 (5):327-340.
- Guerrant RL, Shields DS, Thorson SM, Schorling JB, Groschel DH. 1985. Evaluation and diagnosis of acute infectious diarrhea. *Am J Med*, 78 (6B):91-98.
- Guerrant RL, Araujo V, Soares E, Kotloff K, Lima AA, Cooper WH, Lee AG. 1992. Measurement of fecal lactoferrin as a marker of fecal leukocytes. *J Clin Microbiol*, 30 (5):1238-1242.
- Guerrant RL, Kirchhoff LV, Shields DS, Nations MK, Leslie J, de Sousa MA, Araujo JG, Correia LL, Sauer KT, McClelland KE, et al. 1983. Prospective study of diarrheal illnesses in northeastern Brazil: patterns of disease, nutritional impact, etiologies, and risk factors. *J Infect Dis*, 148 (6):986-997.
- Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS, Thielman NM, Slutsker L, Tauxe RV, Hennessey T, Griffin PM, DuPont H, Sack RB, Tarr P, Neill M, Nachamkin I, Reller LB, Osterholm MT, Bennish ML, Pickering LK. 2001. Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. *Clin Infect Dis*, 32 (3):331-351.
- Gyr N, Alam NH, Nüesch R, et al. 2005. When are stool cultures appropriate in patients with acute infectious diarrhea? *Schweiz Med Forum*, (5): 944-949.
- Hennessey TW, Marcus R, Deneen V, Reddy S, Vugia D, Townes J, et al. 2004. Survey of physician diagnostic practices for patients with acute diarrhea. Clinical and public health implications. *Clin Infect Dis*, 38(3):203-211.
- Hirschhorn N, Kinzie JL, Sachar DB, Northrup RS, Taylor JO, Ahmad SZ, Phillips RA. 1968. Decrease in net stool output in cholera during intestinal perfusion with glucose-containing solutions. *N Engl J Med*, 279 (4):176-181.

- Hossain MA, Albert MJ. 1991. Effect of duration of diarrhoea and predictive values of stool leucocytes and red blood cells in the isolation of different serogroups or serotypes of *Shigella*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 85 (5):664-666.
- Huicho L, Campos M, Rivera J, Guerrant RL. 1996. Fecal screening tests in the approach to acute infectious diarrhea: a scientific overview. *Pediatr Infect Dis J*, 15 (6):486-494.
- Jelinek T, Kollaritsch H. 2008. Vaccination with Dukoral against travelers' diarrhea (ETEC) and cholera. *Expert Rev Vaccines*, 7 (5):561-567.
- Johnston BC, Supina AL, Ospina M, Vohra S. 2007. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev*, (2):CD004827.
- Kane SV, Sandborn WJ, Rufo PA, Zholudev A, Boone J, Lyerly D, Camilleri M, Hanauer SB. 2003. Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker in identifying intestinal inflammation. *Am J Gastroenterol*, 98 (6):1309-1314.
- Khan AI, Huq S, Malek MA, Hossain M, Talukder KA, Faruque AS, Salam MA. 2006. Analysis of fecal leukocytes and erythrocytes in *Shigella* infections in urban Bangladesh. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 37 (4):747-754.
- Koplan JP, Fineberg HV, Ferraro MJ, Rosenberg ML. 1980. Value of stool cultures. *Lancet*, 2 (8191):413-416.
- Korzeniowski OM, Barada FA, Rouse JD, Guerrant RL. 1979. Value of examination for fecal leukocytes in the early diagnosis of shigellosis. *Am J Trop Med Hyg*, 28 (6):1031-1035.
- Leffell MS, Spitznagel JK. 1972. Association of lactoferrin with lysozyme in granules of human polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun*, 6 (5):761-765.
- Lembcke B. 2001. [Diarrhea: essential and rational diagnosis. Pathophysiological aspects and practical recommendations]. *Dtsch Med Wochenschr*, 126 Suppl 1:S16-23.
- Levine MM. 2006. Enteric infections and the vaccines to counter them: future directions. *Vaccine*, 24 (18):3865-3873.
- Louie TJ, Peppe J, Watt CK, Johnson D, Mohammed R, Dow G, Weiss K, Simon S, John JF, Jr., Garber G, Chasan-Taber S, Davidson DM. 2006. Tolevamer, a novel nonantibiotic polymer, compared with vancomycin in the treatment of mild to moderately severe *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis*, 43 (4):411-420.
- Marcos LA, DuPont HL. 2007. Advances in defining etiology and new therapeutic approaches in acute diarrhea. *J Infect*, 55 (5):385-393.
- Masson PL, Heremans JF, Schonke E. 1969. Lactoferrin, an iron-binding protein in neutrophilic leukocytes. *J Exp Med*, 130 (3):643-658.

- McFarland LV. 2006. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol*, 101 (4):812-822.
- Miller JR, Barrett LJ, Kotloff K, Guerrant RL. 1994. A rapid test for infectious and inflammatory enteritis. *Arch Intern Med*, 154 (23):2660-2664.
- Morris AJ, Murray PR, Reller LB. 1996. Contemporary testing for enteric pathogens: the potential for cost, time, and health care savings. *J Clin Microbiol*, 34 (7):1776-1778.
- Musher DM, Logan N, Hamill RJ, Dupont HL, Lentnek A, Gupta A, Rossignol JF. 2006. Nitazoxanide for the treatment of *Clostridium difficile* colitis. *Clin Infect Dis*, 43 (4):421-427.
- Nalin DR, Cash RA, Islam R, Molla M, Phillips RA. 1968. Oral maintenance therapy for cholera in adults. *Lancet*, 2 (7564):370-373.
- Ozerek AE, Rao GG. 1999. Is routine screening for conventional enteric pathogens necessary in sporadic hospital-acquired diarrhoea? *J Hosp Infect*, 41 (2):159-161.
- Parashar UD, Alexander JP, Glass RI. 2006. Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*, 55 (RR-12):1-13.
- Parez N. 2008. Rotavirus gastroenteritis: why to back up the development of new vaccines? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 31 (2-3):253-269.
- Pierce NF, Banwell JG, Mitra RC, Caranasos GJ, Keimowitz RI, Mondal A, Manji PM. 1968a. Oral maintenance of water-electrolyte and acid-base balance in cholera: a preliminary report. *Indian J Med Res*, 56 (5):640-645.
- Pierce NF, Banwell JG, Rupak DM, Mitra RC, Caranasos GJ, Keimowitz RI, Mondal A, Manji PM. 1968b. Effect of intragastric glucose-electrolyte infusion upon water and electrolyte balance in Asiatic cholera. *Gastroenterology*, 55 (3):333-343.
- Rabasa M, Aguado JM, Lizasoain M, Pedraza MA, Arribas P, Lumbreras C, Otero JR, Noriega AR. 1993. [Yield of detection of *Clostridium difficile* toxin versus stool culture in the study of nosocomial diarrhea]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 11 (9):479-481.
- Rohner P, Pittet D, Pepey B, Nije-Kinge T, Auckenthaler R. 1997. Etiological agents of infectious diarrhea: implications for requests for microbial culture. *J Clin Microbiol*, 35 (6):1427-1432.
- Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black RE. 2006. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis*, 6 (6):374-382.

- Scerpella EG, Okhuysen PC, Mathewson JJ, Guerrant RL, Latimer E, Lyster D, Ericsson CD. 1994. Evaluation of a New Latex Agglutination Test for Fecal Lactoferrin in Travelers' Diarrhea. *J Travel Med*, 1 (2):68-71.
- Schneider T, Schreier E, Zeitz M. 2007. [Noroviruses: most frequent cause of infectious gastroenteritis]. *Dtsch Med Wochenschr*, 132 (43):2261-2266.
- Siegel DL, Edelstein PH, Nachamkin I. 1990. Inappropriate testing for diarrheal diseases in the hospital. *JAMA*, 263 (7):979-982.
- Silletti RP, Lee G, Ailey E. 1996. Role of stool screening tests in diagnosis of inflammatory bacterial enteritis and in selection of specimens likely to yield invasive enteric pathogens. *J Clin Microbiol*, 34 (5):1161-1165.
- Slutsker L, Ries AA, Greene KD, Wells JG, Hutwagner L, Griffin PM. 1997. Escherichia coli O157:H7 diarrhea in the United States: clinical and epidemiologic features. *Ann Intern Med*, 126 (7):505-513.
- Smith KE, Besser JM, Hedberg CW, Leano FT, Bender JB, Wicklund JH, Johnson BP, Moore KA, Osterholm MT. 1999. Quinolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota, 1992-1998. Investigation Team. *N Engl J Med*, 340 (20):1525-1532.
- Steffen R, Collard F, Tornieporth N, Campbell-Forrester S, Ashley D, Thompson S, Mathewson JJ, Maes E, Stephenson B, DuPont HL, von Sonnenburg F. 1999. Epidemiology, etiology, and impact of traveler's diarrhea in Jamaica. *JAMA*, 281 (9):811-817.
- Sugi K, Saitoh O, Hirata I, Katsu K. 1996. Fecal lactoferrin as a marker for disease activity in inflammatory bowel disease: comparison with other neutrophil-derived proteins. *Am J Gastroenterol*, 91 (5):927-934.
- Talan DA, Moran GJ, Mower WR, Newdow M, Ong S, Slutsker L, Jarvis WR, Conn LA, Pinner RW. 1998. EMERGENCY ID NET: an emergency department-based emerging infections sentinel network. The EMERGENCY ID NET Study Group. *Ann Emerg Med*, 32 (6):703-711.
- Tibble JA, Bjarnason I. 2001. Non-invasive investigation of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*, 7 (4):460-465.
- Valenstein P, Pfaller M, Yungbluth M. 1996. The use and abuse of routine stool microbiology: a College of American Pathologists Q-probes study of 601 institutions. *Arch Pathol Lab Med*, 120 (2):206-211.
- Yannelli B, Gurevich I, Schoch PE, Cunha BA. 1988. Yield of stool cultures, ova and parasite tests, and *Clostridium difficile* determinations in nosocomial diarrheas. *Am J Infect Control*, 16 (6):246-249.

Zhang X, McDaniel AD, Wolf LE, Keusch GT, Waldor MK, Acheson DW. 2000. Quinolone antibiotics induce Shiga toxin-encoding bacteriophages, toxin production, and death in mice. *J Infect Dis*, 181 (2):664-670.

Anhang

I. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Führende infektiöse Todesursachen weltweit und alle Alter betreffend (World Health Report, 2004).....	3
Abb. 2 Zubereitung der verdünnten Proben.....	22
Abb. 3 Mischen der Proben und Reagenzien, Teil I	22
Abb. 4 Mischen der Proben und Reagenzien, Teil II	23
Abb. 5 Inkubation der Proben/Latexmischungen.....	23
Abb. 6 Histogramm zur Altersverteilung.....	26
Abb. 7 Diarrhoedauer in Tagen.....	29
Abb. 8 Darstellung der Verteilung der Stuhlentleerungsfrequenz	30
Abb. 9 Darstellung von Begleitsymptomen in Bezug auf die in der mikrobiologischen Routinestuhlkultur detektierten Erreger	39
Abb. 10 Algorithmus bei Patienten mit infektiöser Diarrhoe	48

Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Vergleich des Nachweises pathologischer Erreger in der mikrobiologischen Routinestuhlkultur mit den LF-Titern	2
Tab. 2 Verteilung von Alter und Geschlecht.....	26
Tab. 3 Gegenüberstellung der Durchführbarkeit des LF - Tests und der Stuhlqualität	27
Tab. 4 Gegenüberstellung der Mikrobiologie und der Stuhlqualität.....	28
Tab. 5 Gegenüberstellung des Erregerspektrums und der Stuhlqualität	28
Tab. 6 Ergebnisse der Routinestuhlagnostik.....	31
Tab. 7 Nachweis pathologischer Bakterien in der mikrobiologischen Routinestuhlkultur.....	31
Tab. 8 Viren-Nachweis durch die mikrobiologische Routinediagnostik	31

Tab. 9 CDT-Nachweis durch die mikrobiolog. Routinediagnostik	31
Tab. 10 Nachweis pathogener Erreger durch die mikrobiolog. Routinestuhldiagn.	32
Tab. 11 Ergebnisse der Routinestuhldiagn.	32
Tab. 12 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:50-Verdünnung mit dem Bakteriennachweis der mikrobiologischen Routinekultur	33
Tab. 13 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:200-Verdünnung mit dem Bakteriennachweis der mikrobiologischen Routinekultur	35
Tab. 14 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:50-Verdünnung mit dem Virusnachweis der mikrobiologischen Routinekultur	35
Tab. 15 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:200-Verdünnung mit dem Virusnachweis der mikrobiologischen Routinekultur	36
Tab. 16 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:50-Verdünnung mit dem CDT- Nachweis der mikrobiologischen Routinekultur	37
Tab. 17 Vergleich der LF-Titerkonzentration in der 1:200-Verdünnung mit dem CDT- Nachweis der mikrobiologischen Routinekultur	38
Tab. 18 Zusammenhang zwischen CRP-Höhe und pos. Mikrobiologie bzw. pos. LF-Titer ...	40
Tab. 19 Unterscheidung zwischen akuter und chronischer Diarrhoe anhand der Diarrhoedauer	42
Tab. 20 Unterscheidung von akuter und chron. Diarrhoe anhand der Stuhlentleerungs - Frequenz	42

II. Aufnahmebogen

BETREFF: LAKTOFERRINSTUDIE

Ansprechpartnerin: Katharina Rieth, Tel.: 0176/20490123

Bitte bei der Anamnese auf folgende Daten Wert legen:

- Geburtsdatum/-alter
- Geschlecht (w/m)
- Körpergewicht [kg]
- Körpergrösse [m]
- Max. Temperatur am ersten Tag [°C]

Diarrhoe (Einschlusskriterien):	> 3 flüssige Stühle/Tag
	< 14 Tage

- Anzahl der Stuhlentleerungen am Tag (wie oft/Tag)
- Diarrhoedauer (seit wann? Angabe bitte in Tagen, keine Wochentage!)
- Stuhlqualität:
 - flüssig
 - breiig
- Beimengungen:
 - Blut
 - Schleim
- Begleitsymptomatik:
 - Abdominalschmerzen:
 - anamnestisch
 - Druckschmerz
 - Peritonismus
 - Übelkeit
 - Erbrechen
 - Fieber
 - Gelenkbeschwerden
- Risikofaktoren:
 - Wohnsituation:
 - Heim
 - betreutes Wohnen
 - Beruf:
 - Pflegeeinrichtung
 - Ärztin/Arzt
 - Auslandsaufenthalt
 - Medikamente:
 - NSAR (ASS)
 - Antibiotika
 - Zytostatika
 - bekannte Magen-Darm-Erkrankungen (CU, MC, GÖR, intestinaler Tumor, Ulcera, Divertikel,...)

III. Isolierungsmaßnahmen am Klinikum der FSU Jena

A.) Salmonellosen (infektiöse Enteritiden durch Salmonellen)

Erreger: Salmonellen (außer S. typhi, S. paratyphi)
z.B. S.(Salmonella) Enteritidis, S. Typhimurium,
S.Panama, S. Agona., S.Goldcoast ...

Erregerhaltiges Material: Faeces, Erbrochenes, ggf. Urin

Dauer der Schutzmaßnahmen: Abhängig vom bakteriologischen Befund
(Stuhluntersuchung)

Schutzmaßnahmen

Ein Isolierungszimmer ist als solches zu kennzeichnen. Im Dienstzimmer haben sich nachfolgend genannte Personen vor Betreten des Isolierungszimmers zu melden:

Konsiliarärzte, Laborpersonal, Physiotherapeutinnen, Reinigungspersonal, Besucher.
Sie sind über die angewiesenen Isolierungsmaßnahmen in Kenntnis zu setzen.

Immunität/ Impfschutz des Personals empfohlen

☐ ja ☐ nein ☒ nicht möglich

Einzelzimmer (mit eigener Toilette bzw. Steckbecken)

- ☐ Patient soll Zimmer nicht verlassen
- ☒ kann Zimmer nach hygienischer Händedesinfektion verlassen
- ☐ kann Zimmer nach Anlegen Mund-Nasen-Schutz und hyg. Händedesinfektion verlassen
- ☒ nur eigene Toilette bzw. Steckbecken
- ☒ Einzelzimmer in Abhängigkeit vom Verhalten des Patienten
- ☐ nein

Schutzhandschuhe

☒ vor möglichem Kontakt zu erregerhaltigem Material ☐ nein

Schutzkittel

- ☐ für alle eintretenden Personen ☐ nein
- ☒ nur bei Tätigkeiten am Patienten, wenn Kontamination der Dienstkleidung zu erwarten

Kopfbedeckung

☐ ja ☒ nein

Mund- und Nasenschutz

- ☐ für alle eintretenden Personen
- ☒ nein
- ☐ bei Maßnahmen am Patienten
- ☐ für Personal beim Betreten

B.) Norovirusinfektionen (durch Noroviren/-Norwalk-like-Viren)

Erregerhaltiges Material: Faeces, Erbrochenes

Dauer der Schutzmaßnahmen: 48 h nach Sistieren der klinischen Symptome

Schutzmaßnahmen

Ein Isolierungszimmer ist als solches zu kennzeichnen. Im Dienstzimmer haben sich nachfolgend genannte Personen vor Betreten des Isolierungszimmers zu melden: Konsiliarärzte, Laborpersonal, Physiotherapeuten, Reinigungspersonal, Besucher. Sie sind über die angewiesenen Isolierungsmaßnahmen in Kenntnis zu setzen.

Immunität/ Impfschutz des Personals empfohlen

☐ ja ☐ nein ☒ nicht möglich

Einzelzimmer (mit eigener Toilette bzw. Steckbecken)

- ☐ Patient soll Zimmer nicht verlassen
- ☒ kann Zimmer nach hygienischer Händedesinfektion verlassen
- ☐ kann Zimmer nach Anlegen Mund-Nasen-Schutz und hyg. Händedesinfektion verlassen
- ☐ nur eigene Toilette bzw. Steckbecken
- ☐ nein

Schutzhandschuhe

☒ vor möglichem Kontakt zu erregerhaltigem Material ☐ nein

Schutzkittel

- ☐ für alle eintretenden Personen
- ☐ nein
- ☒ nur bei Tätigkeiten am Patienten, wenn Kontamination der Dienstkleidung zu erwarten

Kopfbedeckung

☐ ja ☒ nein

Mund- und Nasenschutz

- ☐ für alle eintretenden Personen ☒ bei Maßnahmen am Patienten
- ☐ nein
- ☒ bei Kontakt mit Erbrochenem

Allgemeine Maßnahmen

Meldepflicht (Gesundheitsamt und Klinikhygiene)

- ☒ Häufung nosokomialer Infektionen
- ☒ Erkrankung und Verdacht (nur bei Tätigkeit im Lebensmittelbereich - § 42, Abs. 1 IfSG)
- ☒ mindestens 2 Fälle mit epidemiologischem Zusammenhang

Personalärztliche Überwachung/ Betreuung der ansteckungsverdächtigen Mitarbeiter

(Ansteckungsverdächtig nach § 2 Infektionsschutzgesetz ist eine Person, von der anzunehmen ist, dass sie Erreger einer übertragbaren Krankheit aufgenommen hat, ohne krank, krankheitsverdächtig oder Ausscheider zu sein)

☒ erforderlich ☐ nicht erforderlich

Namentliche Erfassung von Kontaktpersonen (Mitpatienten und Besucher vor Isolierung)

☐ erforderlich ☒ nicht erforderlich

Bemerkungen/ Erläuterungen:

Patienten auf die Notwendigkeit der Durchführung der hygienischen Händedesinfektion nach Toilettengang hinweisen und in der korrekten Vorgehensweise unterweisen! Personen, die evtl. Kontakt mit Stuhl bzw. Erbrochenem eines Erkrankten hatten, sollen für 3 Wochen eine besonders gründliche Händehygiene betreiben einschließlich Händedesinfektion nach jedem Toilettengang und vor der Zubereitung von Speisen. Erkranktes Personal muss auch bei geringen gastrointestinalen Beschwerden von der Arbeit am Patienten freigestellt werden und darf frühestens 2 Tage nach Ende der klinischen Symptomatik diese Arbeit wieder aufnehmen. Für die mikrobiologische Untersuchung Entnahme einer Stuhlprobe, Abstrich ist nicht ausreichend

Türschild: Distanzierungsmaßnahmen wg. **Tröpfcheninfektion!**

Hygienemaßnahmen bei Norovirus-Ausbruch

Organisatorische Maßnahmen

- Isolierung in Einzelzimmern oder Kohortenisolierung von Erkrankten und Ansteckungsverdächtigen
- keine Verlegung von nicht an Gastroenteritis erkrankten Patienten vom betroffenen in nicht betroffene Bereiche
- Beschränkung der Neuaufnahmen für den betroffenen Bereich (möglichst bis 72 Stunden nach letzter Neuerkrankung)
- Freistellen des erkrankten Personals, möglichst bis 2 Tage nach Ende der klinischen Erscheinung, erneute Freistellung bei erneuten Symptomen

Personalbewegungen

- feste Zuordnung des Personals (kein wechselnder Einsatz vom Personal aus dem Springerpool)
- Zugangsverbot für nicht zwingend erforderliches Personal (z.B. Praktikanten, Doktoranden, Auszubildende)
- deutlich sichtbare Kennzeichnung und Zugangsbeschränkung für den betroffenen Bereich für Besucher und stationsexternes Personal
- alle Berufsgruppe (Ärzte, Konsiliarien, Physiotherapeuten, Röntgenassistenten, Mitarbeiter Labor, Mitarbeiter Dienstleistungsfirma Reinigung) müssen sich beim Betreten des betroffenen Bereichs beim Pflegepersonal melden

Patiententransporte

- Minimierung von Patiententransporten (für interne und externe Diagnosemaßnahmen) und Patientenverlegungen zwischen betroffenem und nicht betroffenen Bereichen auf medizinisch nicht aufschiebbarer Maßnahmen
- rechtzeitige Vorinformation bei nicht aufschiebbaren Patiententransporten und -verlegungen, so dass dort entsprechende Schutzmaßnahmen ergriffen werden können

Händehygiene, Schutzkleidung, Pflegeutensilien, Desinfizierende Reinigung!!!

IV. Tabellarischer Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Name,	<u>Katharina</u> Selma Thea Rieth
Adresse	Hainstrasse 1, 74842 Billigheim
Email	katharina_rieth@gmx.de
Geburtsdatum	15. April 1984
Geburtsort	Mosbach (Neckar-Odenwald-Kreis)
Familienstand	ledig

SCHULAUSBILDUNG

1990-1994	Grund- und Hauptschule Billigheim
1994-2003	Gymnasium Möckmühl
24/06/2003	Allgemeine Hochschulreife (Abitur)

HOCHSCHULAUSBILDUNG

10/2003-10/2009	Humanmedizinstudium an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
14/09/2005	Ärztliche Vorprüfung
03/12/2009	Ärztliche Prüfung

MEDIZINISCHE BERUFLAUFBAHN

KRANKENPFLEGEDIENST

30/06-31/08/03	Abt. für Innere Medizin, Kreiskrankenhaus Möckmühl
19/07-20/08/04	Abt. für Allg. Chirurgie, Kreiskrankenhaus Möckmühl

FAMULATUREN

02/03/-15/03/05	Praxis-Praktikum, Dr. med. T. Kunick, HNO-Arzt, Möckmühl
27/02-28/03/06	Praxis-Famulatur, Dr. med. L. Söhner, Kinderärztin und Kinderkardiologin, Stuttgart
01/08-02/10/07	Klinikfamulatur, Abt. für Innere Medizin, Lehrkrankenhaus der Universität Heidelberg, Kreiskrankenhaus Mosbach
12/02-13/03/07	Klinikfamulatur, Abt. für Viszeral- und Unfallchirurgie, Lehrkrankenhaus der Universität Heidelberg, Kreiskrankenhaus Mosbach

DOKTORARBEIT

Seit 2007 Universitätsklinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Abt.
Gastroenterologie/Hepatologie und Infektiologie, Professor Dr. med. A.
Stallmach, Thema: „Wertigkeit der semiquantitativ erfassten fäkalen
Laktoferrinkonzentration in der Abklärung infektiöser Diarrhoen“

PRAKTISCHES JAHR

18/08-05/12/08 I Tertial, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Lehrkrankenhaus der
Friedrich-Schiller-Universität Jena, SRH-Waldklinikum Gera
08/12/08-27/03/09 II Tertial, Abt. für Orthopädie- und Unfallchirurgie, Lehrkrankenhaus
der Universität Bern, Spital Grabs, Schweiz
30/03-23/05/09 Erster Abschnitt des III Tertials, Lehrkrankenhaus der University of
Otago, Wellington Hospital, Neuseeland
25/05-17/07/09 Zweiter Abschnitt des III Tertials, Abt. für Innere Medizin,
Lehrkrankenhaus der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Klinikum
Altenburger Land, Altenburg

ZUSÄTZLICHE AUSBILDUNGEN UND QUALIFIKATIONEN

16/10/06-03/02/07 Wahlfach „Repetitorium und Medical English“, Dr. med. Meisner,
Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Städtisches
Krankenhaus Dresden-Neustadt
18/04-18/07/07 Wahlfach „Spezielle Herz- und Thoraxchirurgie“, Dr. med. M. Breuer,
Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie, Universitätsklinikum Jena
16/10/07-03/02/08 Wahlfach „Neue bildgebende Verfahren in der Neuroradiologie und
Kinderradiologie“, PD Dr. med. habil C. Fitzek, PD Dr. med. habil H.-
J. Mentzel, Institut für Diagnostische- und Interventionelle Radiologie,
Universitätsklinikum Jena.
03/10-04/10/09 Aufbaukurs für Pädiatrische Ultraschalldiagnostik des ZNS, Dr. med.
A. Lemmer, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Helios Klinikum
Erfurt
11/03/2009 Workshop Ultraschall-Schockraumdiagnostik, Dr. med. J. Steinbrenner,
Ärztlicher Leiter ZNA, Ambulatorium und Rettungsdienst, Spital
Grabs, Schweiz.

Jena, den 25.03.2010

V. Danksagung

Danken möchte ich in erster Linie Herrn Prof. Dr. med. A. Stallmach, Direktor der Abteilung für Gastroenterologie/Hepatologie/Infektiologie der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums Jena und zwar sowohl für die Überlassung des Promotionsthemas als auch für die hilfreiche und unkomplizierte Zusammenarbeit während der Durchführung der Studie und der Fertigstellung der Dissertation.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Dr. med. T. Seidel, OA. der Abteilung für Infektiologie der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums Jena, für die unkomplizierte Unterstützung bei der Probensammlung geeigneter Patienten auf der Station 500.

Staatssekretär Prof. Dr. med. Thomas Deufel und Herrn Dr. med. Dr. rer. nat. Michael Kiehntopf, ltd. OA im gleichnamigen Institut danke ich für die Ermöglichung der Durchführung des Laktoferrin-Tests in Räumlichkeiten des Institutes und Prof. Dr.med. E. Straube, Leiter des Instituts für Medizinische Mikrobiologie der FSU Jena für die Bereitstellung und Nutzung von Datenmaterial.

Des Weiteren bedanke ich mich recht herzlich bei Dr. Heuchel für die gute Betreuung und Aufmunterung zu Beginn meiner Arbeit.

Auch bei den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der FSU Jena möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit bedanken.

Im Speziellen gilt mein Dank hier Fr. Schwettling, ltd. MTA, die mir mit unzähligen Treffen und der Mitarbeit an der Verbesserung der Durchführung der ersten Testversuche sehr weitergeholfen hat.

Besonders möchte ich auch Hr. Große für die Sammlung und Verwaltung der Ergebnisberichte der Laktoferrin-Test-Auswertung danken.

Mein Dank geht auch an die Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter im Klinikumsarchiv Jena-Lobeda, die durch die unermüdliche Suche und Bereitstellung von Aktenmaterial ebenfalls einen Beitrag zu meiner Arbeit geleistet haben, hier im Speziellen Fr. Herold, Fr. Neumann und Fr. Hanemann.

Ebenfalls danke ich der Firma Techlab. Inc., Blacksburg und Inverness Medical Deutschland GmbH für die Bereitstellung des Materials und die Produktinformationen, speziell Mr. Wall, Vice President, Operations, TechLab. Inc., Blacksburg, wie auch Herrn Klimpe, Vertriebsleiter und Herrn Dummert, Außendienstleiter bei Inverness Medical Deutschland GmbH.

Darüber hinaus danke ich natürlich all denjenigen, die direkt und indirekt zum Gelingen der Arbeit beitrugen, indem sie mir mit Rat und Tat zur Seite standen.

Deshalb möchte ich mich auch von Herzen bei meiner Familie und meinen Freunden für die vielen aufmunternden Worte, fachlichen Ratschläge und für die Unterstützung und Hilfe beim Korrekturlesen bedanken.

VI. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist, ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind und mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Herr Prof. Dr. med. A. Stallmach, Direktor der Abteilung für Gastroenterologie/Hepatology/ Infektiologie der Klinik Innere Medizin II der FSU Jena,

Herr Dr. med. T. Seidel, OA. der Abteilung für Infektiologie der Klinik Innere Medizin II der FSU Jena,

Herr Prof. Dr. med. E. Straube, Leiter Institut für Medizinische Mikrobiologie, FSU Jena,

Staatssekretär Prof. Dr. med. Thomas Deufel und Herr Dr. med. Dr. rer. nat. Michael

Kiehntopf, ltd. OA des Instituts für klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der FSU Jena,

Fr. K. Schwettling, ltd. MTA des Instituts für klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der FSU Jena,

Herr Dr. Heuchel,

Fr. Szymocha, Chefsekretärin der Abt. für Gastroenterologie, Fr. G. Oppermann, Sekretärin der Abt. Für Infektiologie (Station 500) und Fr. S. Birr, Sekretärin der Abteilung für Hepatologie (Station 461),

Pflegepersonal der Stationen 461 und 500 der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums der FSU Jena,

Fr. Hanemann, Fr. Herold und Fr. Neumann, Mitarbeiterinnen des Klinikarchivs Jena-Lobeda.

Zudem erkläre ich, dass die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.